

Mehrdimensionale Analytik von hydrophilen synthetischen Copolymeren

Vom Fachbereich Chemie
der technischen Universität Darmstadt

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs (Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. Daniela Knecht
aus Frankfurt am Main

Berichterstatter:	PD. Dr. Harald Pasch
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Markus Busch
Tag der Einreichung:	21. November 2006
Tag der mündlichen Prüfung:	15. Januar 2007

Darmstadt 2007

D17

Mein Dank gilt im Besonderen Herrn Priv.- Doz. Dr. Harald Pasch für die interessante Themenstellung und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Außerdem möchte ich mich für die vielen interessanten und hilfreichen Gespräche und Diskussionen bedanken.

Bei Herrn Dr. Frank Rittig und Herrn Dr. Christian Schwede möchte ich mich für die erfolgreiche Zusammenarbeit, für die Bereitstellung der Proben, für viele interessante Gespräche und Diskussion sowie für die finanzielle Unterstützung bedanken.

Auch Herrn Dr. Bastiaan Staal danke ich für die Durchsicht des Manuskripts, Herrn Dr. Volker Herzog und Herrn Dr. Timo Mangel für die sehr gute Zusammenarbeit.

Außerdem möchte ich mich an dieser Stelle bei allen Kollegen bedanken, die durch Diskussionen oder technische Hilfestellungen zu dieser Arbeit beigetragen haben: Wolfgang Radke, Wolf Hiller, Karsten Rode, Christoph Brinkmann, Valentina Mass und Florian Becker.

Natürlich bedanke ich mich auch ganz herzlich bei allen Mitarbeitern des Deutschen Kunststoff-Instituts, die mir die Zeit verschönt und mich immer moralisch unterstützt haben: Danke liebe Christel, Melanie, Adele, Julia, Birgit Christian, Kalle, Marco, Thomas, Jacques, Pritish und Stefan!

Und für die doch sehr schöne Zeit des gemeinsamen Schreibens und der gegenseitigen moralischen Unterstützung möchte ich mich bei Arnim bedanken.

Zuletzt danke ich meiner Schwester und vor allem meinen Eltern für die Unterstützung während des Studiums und auch der Promotionszeit!

Die Seiten 58 – 62 werden nicht veröffentlicht.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Motivation	1
2.	Theoretische Grundlagen	6
2.1	Flüssigchromatographie (HPLC)	6
2.2	Größenausschlusschromatographie (SEC)	7
2.3	Adsorptionschromatographie (LAC)	9
2.4	Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LC-CC)	10
2.5	Gradientenchromatographie	12
2.6	2D-Chromatographie	12
2.7	Chromatographie von hydrophilen Polymeren	15
3.	Analytik von PEG-AS-HPA- Copolymeren	17
3.1	Proben	17
3.2	Entwicklung von chromatographischen Methoden zur Charakterisierung der PEG-Makromonomere	19
3.3	Quantifizierung der Nebenprodukte in den Makromonomeren	25
3.4	Entwicklung chromatographischer Methoden zur Charakterisierung von PEG-AS-Copolymeren	27
3.4.1	Entwicklung einer SEC-Methode für PEG-AS-Copolymere	28
3.4.2	LC-CC-Untersuchung von PEG-AS-Copolymeren	32
3.5	Entwicklung chromatographischer Methoden zur Charakterisierung von PEG-AS-HPA-Copolymeren	35
3.5.1	SEC der PEG-AS-HPA-Copolymere	35
3.5.2	LC-CC-Untersuchungen von PEG-AS-HPA-Copolymeren	38
3.6	Gradientenchromatographie zum Nachweis von Polyacrylsäure	41
3.7	LC-CC als Mittel zur Reaktionskontrolle	45
3.8	2D-Chromatographie der Copolymere	47
3.8.1	2D-Chromatographie der PEG-AS-Copolymere	50
3.8.2	2D-Chromatographie der PEG-AS-HPA-Copolymere	54
3.9	Betontest	58
4.	Analytik von PEG-g-PVAc- und PEG-g-PVOH- Pfropfcopolymeren	63
4.1	Proben	64
4.2	Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte mittels SEC	65

4.3	Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte mittels LC-CC (PVAc)	69
4.4	Gekoppelte Methoden zur Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte	76
4.4.1	Analyse der LC-CC-Fractionen mittels ¹ H-NMR	76
4.4.2	2D-Chromatographie der PEG-g-PVAc-Copolymere	82
4.4.3	2D-Chromatographie mit Gradient in der 1. Dimension	95
4.5	Charakterisierung der PEG-g-PVOH-Copolymeren mittels SEC	99
4.6	Charakterisierung der PEG-g-PVOH-Copolymere mittels LC-CC (PEG)	102
4.7	2D-Chromatographie der PEG-g-PVOH-Copolymere	111
5.	Experimenteller Teil	119
5.1	Chemikalien	119
5.1.1	Lösungsmittel und Salze für die Chromatographie	119
5.1.2	Polymerstandards	119
5.1.3	Copolymere	119
5.2	Chromatographische Systeme	120
5.2.1	LC-CC	120
5.2.2	Gradientenchromatographie	120
5.2.3	SEC	121
5.2.4	2D-Chromatographie	121
5.3	Detektion	121
6.	Zusammenfassung	123
7.	Verwendete Abkürzungen	130
8.	Literaturverzeichnis	132

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht oder auf Tagungen in Form von Postern oder Vorträgen vorgestellt:

- Veröffentlichung:

D. Knecht, F. Rittig, R. F.M. Lange, H. Pasch:

“Multidimensional chromatographic techniques for hydrophilic copolymers - II. Analysis of poly(ethylene glycol)-poly(vinyl acetate)-graft copolymers”

Journal of Chromatography A, **2006**, 1130, 43-53

- Vorträge:

(1) “New Chromatographic and Hyphenated Techniques for Hydrophilic Copolymers”

HTC-9 (Ninth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers),
10.02.2006, York

(2) “Fast Screening of Acrylic Acid Copolymers used as Construction Polymers”

SCM-3 (Third International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules),
30.01.-02.02.2007, Amsterdam

- Poster:

(1) “Development of Coupled Chromatographic Techniques for Hydrophilic Synthetic Copolymers”

SCM-2 (Second International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules),
02.-04.02.2005, Amsterdam

(2) „Gekoppelte chromatographische Methoden zur Analytik von hydrophilen synthetischen Polymeren“

Fachgruppentagung Makromolekulare Chemie, 15.-16.03.2004,
Düsseldorf

1. Einleitung und Motivation

Hydrophile Polymere finden in zahlreichen industriellen Bereichen Anwendung. Sie werden zum Beispiel in der Pharmaindustrie als Tablettencoatings eingesetzt. In Abhängigkeit von der jeweiligen chemischen Zusammensetzung können spezielle Löslichkeitseigenschaften des Coatings eingestellt werden, die es gestatten, die Tablette gezielt in bestimmten Regionen des Magen-Darm-Traktes aufzulösen. Damit kann eine sehr definierte Wirkstofffreisetzung gewährleistet werden. Ein weiterer Vorteil derartiger Coatings ist es, dass die Wirkstoffe geschützt und deren möglicher schlechter Geschmack maskiert werden. Weiterhin werden hydrophile Polymere in der Kosmetikindustrie als Filmbildner und in der Waschmittelindustrie als Farbübertragungs- und Inkrustationsinhibitoren eingesetzt. In der Bauchemie werden sie als Fließverbesserer für Beton verwendet. Durch die Additivierung des Betons mit hydrophilen Copolymeren wird erreicht, dass der Beton besser und länger verarbeitbar bleibt. Besonders im extremen Hochbau ist ein großer Markt für solche Polymere vorhanden, da hier hohe technologische Ansprüche mit ständig steigenden Sicherheitsanforderungen verknüpft werden müssen.

Die Strukturen hydrophiler Polymere werden maßgeschneidert, um genau definierte Anwendungseigenschaften zu erbringen. Für die präzise Kontrolle der Syntheseprozesse und der sich ergebenden molekularen Strukturen ist eine leistungsfähige und zuverlässige Analytik nötig.

Synthetische (Co-)Polymere sind wegen der während der Polymerisation ablaufenden unterschiedlichen Prozesse immer uneinheitlich aufgebaut. Neben der, je nach Polymerisationsart, verschieden breiten Molekulargewichtsverteilung¹ weisen die (Co-)Polymere häufig auch Funktionalitätsverteilungen bzw. Verteilungen nach der chemischen Zusammensetzung auf. Copolymere können neben unterschiedlichen chemischen Zusammensetzungen zusätzlich verschiedene Sequenzverteilungen zeigen. Diese führen dazu, dass die Monomerbausteine nicht alternierend oder statistisch sondern blockartig oder in Form von Pfropfästen entlang der Polymerkette angeordnet sind (Abb. 1).

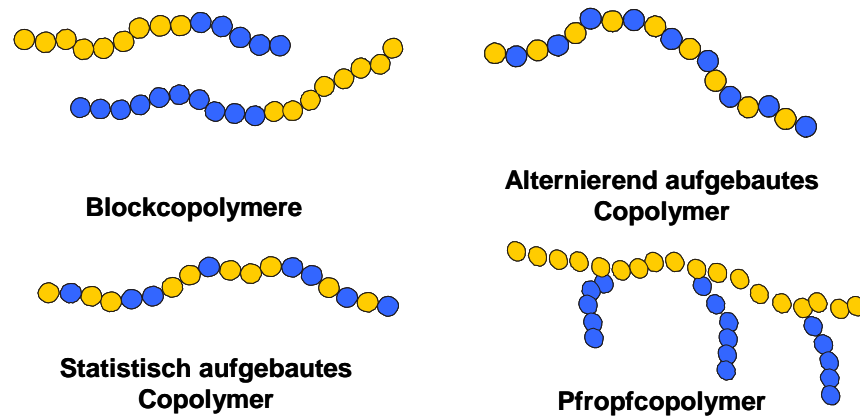


Abb. 1 Unterschiedliche Architekturen bei synthetischen Copolymeren

Die Überlagerung der verschiedenen Verteilungen in einer Polymerprobe führt zu sehr komplexen Strukturen. Diese lassen sich nicht mehr durch einzelne Parameter oder Parametermittelwerte, sondern nur noch durch die entsprechenden Verteilungsfunktionen umfassend beschreiben. Dementsprechend sind analytische Methoden erforderlich, die es gestatten, die verschiedenen Verteilungen quantitativ zu erfassen.

Zur Charakterisierung komplexer Polymere eignen sich insbesondere stofftrennende (chromatographische) Methoden. So wird zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung von (Co-)Polymeren typischerweise die Größenausschlusschromatographie (SEC) eingesetzt. Durch Adsorptions- oder Gradientenchromatographie lassen sich komplexe (Co-)Polymere nach der Funktionalität oder der chemischen Zusammensetzung auftrennen. Die Korrelation der jeweiligen Verteilungen untereinander ist durch die genannten chromatographischen Verfahren jedoch nicht möglich. Hierzu ist es notwendig, mehrdimensionale analytische Methoden für die entsprechenden Systeme zu entwickeln. Die Kombination von unterschiedlichen Trennmechanismen kann gegebenenfalls dazu führen, dass das zu untersuchende Polymer gleichzeitig nach zwei Verteilungen getrennt wird. Dies wird bei der zweidimensionalen Chromatographie z.B. dadurch realisiert, dass die HPLC mit der SEC gekoppelt wird.

Die Kopplung der Chromatographie mit einer spektroskopischen Methode gestattet die schnelle und präzise Analyse einzelner Polymerfraktionen bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung oder Funktionalität. Mit der

Infrarotspektroskopie (IR) können z.B. funktionelle Gruppen nachgewiesen und nach entsprechender Kalibration quantifiziert werden. Durch Kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR) lassen sich u.a. Copolymerzusammensetzungen oder Verzweigungen bestimmen. In der Regel liefert jedoch eine spektroskopische Methode immer nur einen Mittelwert des zu bestimmenden Parameters.

Für hydrophobe Polymere sind in den letzten Jahren zahlreiche chromatographische Trennmethoden erarbeitet worden. Auch die Kopplung von unterschiedlichen chromatographischen Methoden im Sinne einer zweidimensionalen Chromatographie ist für diese Fälle gut erforscht. Demgegenüber sind für die Chromatographie von hydrophilen Polymeren nur vergleichsweise wenige Arbeiten bekannt. Anders als bei hydrophoben Polymeren treten zahlreiche methodische und technische Probleme auf, die eine Weiterentwicklung auf diesem Gebiet in der Vergangenheit erschwert haben^{2,3,4}. Hydrophile Polymere weisen in der Regel eine hohe Polarität auf; in Lösung zeigen sie häufig Polyelektrolytcharakter. Die für die Chromatographie erforderliche Löslichkeit ist in vielen Fällen nur in wässrigen Medien gegeben. Das Vorliegen von Wasser in der mobilen Phase des chromatographischen Systems führt aber zu Problemen nicht nur bei der chromatographischen Trennung selbst, sondern auch bei der Detektion.

Die zahlreichen Anwendungsgebiete hydrophiler (Co-)Polymere und die bisher unzureichenden analytischen Möglichkeiten erfordern somit weitere Entwicklungen auf diesem Gebiet.

Motivation

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mehrdimensionale chromatographische Methoden für hydrophile Copolymere zu entwickeln, die eine umfassende und schnelle Charakterisierung dieser Polymere ermöglichen.

Im ersten Abschnitt der Arbeit sollen analytische Methoden zur Charakterisierung von Copolymeren auf der Basis von PEG-Makromonomeren und Acrylsäure entwickelt werden. Diese hydrophilen Copolymere werden in verschiedenen Bereichen der Bauchemie, u.a. als Fließverbesserer in Beton, eingesetzt. Die durch radikalische Polymerisation hergestellten statistischen Copolymere weisen mehrere Verteilungen auf. Neben der Molekulargewichtsverteilung des Copolymeren sind dies die Molekulargewichtsverteilung des eingebauten Makromonomeren und die Verteilung nach der chemischen Zusammensetzung. Der Einbau von freier Acrylsäure und deren Salzen in das Copolymer führt ferner dazu, dass es zu Ladungsverteilungen kommen kann. Durch die bei bestimmten pH-Werten vorhandenen Ladungen im Polymeren werden die Copolymere zu Polyelektrolyten, die sich in ihren chromatographischen Eigenschaften deutlich von ungeladenen Polymeren unterscheiden.

Wie bei jeder Polymerisationsreaktion kommt es auch bei der Synthese der PEG-Acrylsäure-Copolymere zur Bildung von Nebenprodukten, die die Heterogenität der Reaktionsprodukte noch weiter erhöhen. Demzufolge müssen Methoden entwickelt werden, die es gestatten, das eigentliche Copolymer von Nebenprodukten und eventuell vorhandenen Edukten zu trennen. Für die einzelnen Komponenten der Reaktionsprodukte sollen dann die jeweiligen chemischen Zusammensetzungen und Molekulargewichtsverteilungen bestimmt werden.

Im Weiteren sollen technische Produkte mit den neu entwickelten chromatographischen Methoden bezüglich ihrer molekularen Heterogenität charakterisiert werden. Durch den Vergleich der Ergebnisse mit den anwendungstechnischen Eigenschaften soll versucht werden, Struktur-Eigenschaftsbeziehungen zu finden.

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung von analytischen Methoden zur Charakterisierung von Copolymeren auf der Basis von PEG und Polyvinylacetat (PVAc) bzw. Polyvinylalkohol (PVOH)⁵. PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere werden als Tablettencoatings eingesetzt. Durch einen maßgeschneiderten Molekülaufbau und die damit verbundenen Löslichkeitseigenschaften soll eine gezielte Wirkstofffreisetzung erreicht werden. Die PEG-g-PVOH-Copolymere werden durch polymeranaloge Umsetzung aus den entsprechenden PEG-g-PVAc-Copolymeren hergestellt. Diese werden durch radikalische Pfropfung von Vinylacetat auf PEG synthetisiert. Da Pfropfreaktionen niemals vollständig verlaufen, liegen sowohl in den PEG-g-PVAc-Pfropfprodukten als auch in den entsprechenden Verseifungsprodukten komplexe Mischungen aus Homopolymeren und Copolymeren vor. Durch chromatographische Methoden sollen möglichst viele Komponenten der komplexen Reaktionsprodukte aufgetrennt und analysiert werden. So gilt es u.a., nicht gepfropftes PEG und die Homopolymere des Vinylacetats und des Vinylalkohols nachzuweisen. Für die Pfropfcopolymerfraktionen sollen die chemischen Zusammensetzungen und Molekulargewichtsverteilungen ermittelt werden. Für eine umfassende Analyse der Pfropfprodukte werden Methoden der zweidimensionalen Chromatographie entwickelt, die auch im Bereich des schnellen Produktscreenings eingesetzt werden können. Dazu ist es erforderlich, die einzelnen chromatographischen Verfahren so zu beschleunigen, dass 2D-Experimente innerhalb von 2 Stunden durchgeführt werden können.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Flüssigchromatographie (HPLC)

Die Flüssigchromatographie (high performance liquid chromatography, HPLC) ist eine gängige Methode zur Analyse von Polymeren. Komplexe Polymerproben werden dabei in verschiedene Komponenten aufgetrennt. Je nach chromatographischem Modus beruht die Auftrennung einer Probe auf unterschiedlichen Molekülgrößen oder unterschiedlicher Art und/oder Anzahl von funktionellen Gruppen im Molekül sowie verschiedenen Monomerarten im Polymermolekül.

Im chromatographischen Experiment wird eine verdünnte Lösung der komplexen Polymerprobe in der mobilen Phase auf die Trennsäule injiziert. Die chromatographische Auftrennung ist auf die unterschiedliche Verteilung der Polymermoleküle zwischen der mobilen und der stationären Phase zurückzuführen. Dieser Prozess lässt sich durch folgende Gleichung beschreiben:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K_D \quad (1)$$

K_D ist dabei der Verteilungskoeffizient, der das Konzentrationsverhältnis der gelösten Probemoleküle zwischen mobiler und stationärer Phase beschreibt. Er ist wie aus Gleichung (1) hervorgeht direkt mit einer Änderung der freien Gibbs-Energie ΔG verbunden. Damit besteht K_D aus einem entropischen (ΔS) und einem enthalpischen (ΔH) Term. Abhängig von der Wahl der mobilen und stationären Phase sowie der Temperatur können die unterschiedlichen Modi der Flüssigchromatographie eingestellt werden. Man unterscheidet drei chromatographische Trennmodi:

1. Größenausschlusschromatographie (size exclusion chromatography, SEC): Entropiegesteuerte Trennmethode, die auf den Unterschieden der hydrodynamischen Radien der Moleküle in verdünnter Lösung beruht

2. Adsorptionschromatographie (liquid adsorption chromatography, LAC): Enthalpiegesteuerte chromatographische Trennmethode, die durch Wechselwirkungen zwischen funktionellen Gruppen der stationären Phase und der Polymermoleküle hervorgerufen wird
3. Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (liquid chromatography under critical conditions, LC-CC): Chromatographischer Modus, bei dem sich die entropischen und enthalpischen Effekte gegeneinander aufheben, d.h. $\Delta G = 0$ ist.

2.2 Größenausschlusschromatographie (SEC)

Die am häufigsten eingesetzte chromatographische Trennmethode zur Analytik von Polymeren ist die Größenausschlusschromatographie (SEC). Der Trennmechanismus beruht darauf, dass Moleküle unterschiedlicher hydrodynamischer Radien unterschiedlich tief in die Poren der stationären Phase eindringen. Dabei erfahren die Moleküle eine Konformationsänderung, die mit einer Entropieänderung einhergeht. Bei der idealen SEC werden enthalpische Wechselwirkungen der Polymermoleküle mit der stationären Phase ausgeschlossen ($\Delta H = 0$), so dass sich Gleichung (1) wie folgt vereinfachen lässt:

$$K_{SEC} = \exp\left(\frac{\Delta S}{R}\right) \quad (2)$$

Der Trennbereich der SEC wird durch das Porenvolumen der stationären Phase V_p bestimmt. Die Auftrennung erfolgt nach der Molekülgröße: große Moleküle können nicht so weit in die Poren der stationären Phase diffundieren und eluieren zuerst von der Säule, während kleine Moleküle durch die Diffusion in die Poren länger auf der stationären Phase verweilen und später eluiert werden. Der Trennbereich der SEC wird durch die beiden Extrema „Ausschlussgrenze“ und „totale Permeation“ begrenzt. Im Falle der totalen Permeation können Moleküle unterhalb einer bestimmten Größe nicht mehr aufgetrennt werden. Sie können ungehindert ohne Entropieänderung in alle Poren der stationären Phase eindringen. In diesem Falle erhält man

$K_{SEC} = 1$. Moleküle oberhalb einer bestimmten Größe werden nicht aufgetrennt, weil sie auch in die größten zur Verfügung stehenden Poren der stationären Phase nicht eindringen können. Hier ist die Ausschlussgrenze erreicht. Es gilt: $K_{SEC} = 0$. K_{SEC} liegt somit bei Werten zwischen 0 und 1.

Für das Elutionsvolumen V_E gilt:

$$V_E = V_0 + K_{SEC} V_P \quad (3)$$

V_E ist das experimentell zu ermittelnde Elutionsvolumen, V_0 ist das Zwischenkornvolumen und V_P ist das Porenvolumen.

Zur Bestimmung von Molekulargewichten müssen polymerspezifische Kalibrierungen durchgeführt werden. Konventionell werden unterschiedliche Polymerstandards mit bekanntem Molekulargewicht (und möglichst enger Molekulargewichtsverteilung) auf die Säule injiziert und die Molekulargewichte gegen die experimentell ermittelten Elutionsvolumina aufgetragen. Durch diese Kalibrationskurven können dann die experimentell bestimmten Werte für das Elutionsvolumen einer unbekannten Polymerprobe mit dem entsprechenden Molekulargewicht korreliert werden. Wenn entsprechende Kalibrationsstandards nicht zur Verfügung stehen, kann unter bestimmten Voraussetzungen die universelle Kalibrierung nach Benoit et al.^{6,7} genutzt werden. Mit deren Hilfe kann man Kalibrationen ineinander umrechnen.

Ausgehend vom Zusammenhang zwischen hydrodynamischen Volumen (V_H), der Grenzviskosität ($[\eta]$) und dem Molekulargewicht postuliert Benoit, dass die SEC streng nach V_H trennt. Damit gilt für gleiche Elutionsvolumina zweier Polymere:

$$V_E^1 = V_E^2 \quad (4)$$

$$V_H \approx [\eta] M \quad (5)$$

$$[\eta]_1 M_1 = [\eta]_2 M_2 \quad (6)$$

Wenn nun für ein bekanntes Polymer 1 die Funktion $[\eta]_1 M_1$ bekannt ist, kann für ein unbekanntes Polymer 2 nach Bestimmung der Grenzviskosität $[\eta]_2$ das gesuchte Molekulargewicht M_2 berechnet werden. Die Grenzviskosität

$[\eta]_1$ und $[\eta]_2$ lassen sich z.B. dadurch bestimmen, dass die SEC mit einem Viskositätsdetektor gekoppelt wird. Bei Kenntnis von M_1 und experimenteller Messung von $[\eta]_1$ und $[\eta]_2$, ergibt sich das gesuchte Molekulargewicht aus (6). Steht kein Viskositätsdetektor zur Verfügung, kann die universelle Eichung unter Einbeziehung der Mark-Houwink-Gleichung (7) genutzt werden.

$$[\eta] = KM^a \quad (7)$$

K und a sind dabei für viele Polymere literaturzugängliche Parameter^{1,8,9,10}. Bei Kenntnis von K_1 , a_1 und M_1 sowie K_2 und a_2 lässt sich M_2 nach folgender Gleichung berechnen:

$$\log M_2 = \left(\frac{1}{1+a_2} \right) \log \frac{K_1}{K_2} + \left(\frac{1+a_1}{1+a_2} \right) \log M_1 \quad (8)$$

2.3 Adsorptionschromatographie (LAC)

Im Gegensatz zur SEC beruht der Trennmechanismus der Adsorptionschromatographie (LAC) nicht auf entropischen Effekten, sondern wird durch enthalpische Wechselwirkungen der Polymermoleküle mit funktionellen Gruppen der stationären Phase hervorgerufen. Im Idealfall der reinen LAC kann man annehmen, dass $\Delta S = 0$ ist.

Für den entsprechenden Verteilungskoeffizienten erhält man daher:

$$K_{LAC} = \exp\left(-\frac{\Delta H}{RT}\right) \quad (9)$$

Da im Falle der LAC ΔH negativ ist, sind die Werte für den Verteilungskoeffizienten $K_{LAC} > 1$.

Um enthalpische Wechselwirkungen zwischen gelösten Polymermolekülen und der stationären Phase zu ermöglichen, muss als Eluent ein

thermodynamisch schlechtes Lösungsmittel eingesetzt werden. Bei Verwendung thermodynamisch guter Lösungsmittel werden solche Wechselwirkungen verhindert, weshalb derartige Lösungsmittel in der SEC zum Einsatz kommen.

Für das Elutionsvolumen V_E gilt:

$$V_E = V_0 + K_{LAC}(V_P + V_{Stat}) \quad (10)$$

V_P steht für das Porenvolumen, V_0 für das Zwischenkornvolumen und V_{Stat} ist das für die Trennung zugängliche Volumen der stationären Phase.

Die Trennung in der LAC beruht auf der Wechselwirkung von Polymer und stationärer Phase. Im Falle eines Homopolymers gilt, dass mit der Größe eines Polymermoleküls die Anzahl der wechselwirkenden Gruppen steigt und somit auch die Wahrscheinlichkeit für eine Adsorption an die stationäre Phase zunimmt. Demzufolge werden Polymere mit höherem Molekulargewicht stärker adsorbiert als solche mit niedrigerem Molekulargewicht^{11,12}. Durch geschickte Wahl der stationären Phase, des Eluenten und der Temperatur können die Wechselwirkungen zwischen Polymermolekül und stationärer Phase eingestellt und kontrolliert werden^{13,14}.

2.4 Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LC-CC)

Am Übergang des chromatographischen Modus der SEC zum Adsorptionsmodus gibt es einen sehr engen Bereich, in dem sich die entropischen und enthalpischen Wechselwirkungen kompensieren. Es gilt also

$$K_D = \exp\left(\frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}\right) \quad \text{mit} \quad \frac{\Delta S}{R} = \frac{\Delta H}{RT} \quad (11)$$

und man erhält für den Verteilungskoeffizienten K_D einen Wert von $K_D = 1$. Dieser chromatographische Bereich wird als kritischer Punkt der Adsorption (liquid chromatography under critical conditions, LC-CC) bezeichnet¹⁵⁻²¹.

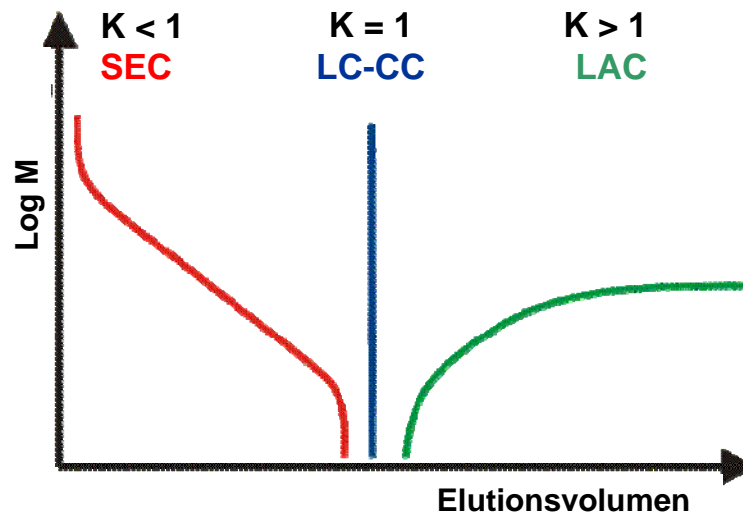


Abb. 2 Trennmodi der Flüssigchromatographie

An diesem kritischen Punkt eluieren Polymere der gleichen Art unabhängig von ihrer Kettenlänge bzw. von ihrem Molekulargewicht an einem ganz bestimmten Elutionsvolumen^{13,22}. Die chromatographischen Bedingungen des kritischen Punktes sind genau festgelegt und werden durch die Art und Chemie der stationären Phase, die Eluentzusammensetzung, die Temperatur und die Flussrate bestimmt²³.

Mit derartigen chromatographischen Bedingungen ist es möglich, Polymerblends²⁴ und komplexe Polymere wie z.B. Blockcopolymere^{25,26,27} zu trennen. Bei der Trennung von Blockcopolymeren kann, durch das Arbeiten am kritischen Punkt der Adsorption eines der beiden Blöcke, dieser „chromatographisch unsichtbar“ gemacht werden. Das heißt, dass Homopolymere dieser Polymerart unabhängig von ihrem Molekulargewicht bei genau einem Elutionsvolumen eluieren. Dadurch erfolgt die chromatographische Trennung ausschließlich nach der Blocklängenverteilung bzw. der chemischen Heterogenität des zweiten Blocks. Eine andere mögliche Anwendung der LC-CC ist die Endgruppenanalyse²¹.

2.5 Gradientenchromatographie

Wenn eine Polymerprobe an der stationären Phase durch Wechselwirkungen adsorbiert wird und unter den in 2.3-2.4 gezeigten isokratischen chromatographischen Methoden nicht eluiert werden kann, kann die Gradientenchromatographie herangezogen werden. Hierbei wird die Eluentzusammensetzung während des chromatographischen Laufes variiert. Durch Erhöhung des Anteils des thermodynamisch besseren Lösungsmittels in der mobilen Phase können auch Polymeranteile, welche an der stationären Phase adsorbieren, eluiert werden. Auch Bestandteile, die durch Unlöslichkeit im schlechteren Eluentanteil anfangs auf der chromatographischen Trennsäule ausgefallen sind, können wieder gelöst und von der Säule eluiert werden²⁸. Durch Einsatz dieser Methode können durch geeignete Wahl von stationärer Phase, mobiler Phase und Temperatur Polymerblends, statistische Copolymere und Blockcopolymere getrennt werden²⁹⁻³¹. Die Einstellung des jeweiligen Gradienten muss für jedes System neu gewählt und optimiert werden.

2.6 2D-Chromatographie

Alle beschriebenen chromatographischen Trennmodi können Informationen zu jeweils einer Verteilung, also entweder zur chemischen Zusammensetzung, zur Funktionalitätsverteilung **oder** zur Molekulargewichtsverteilung einer komplexen Polymerprobe liefern. Es ist nicht möglich, mehrere Verteilungen gleichzeitig zu charakterisieren. Durch die Kopplung von zwei unterschiedlichen chromatographischen Verfahren ist es jedoch möglich, den Informationsgehalt eines Experimentes zu erhöhen³². Durch die Kopplung der Adsorptionschromatographie (LAC/LC-CC) mit der Größenausschlusschromatographie (SEC) beispielsweise können sowohl Aussagen zur chemischen Zusammensetzung (LAC/LC-CC) einer Polymerprobe als auch zur Molekulargewichtsverteilung (SEC) erhalten werden. Eine solche Kopplung erfolgt online über ein Acht-Port-Schaltventil und zwei Speicherschleifen, durch die die Fraktionen von der ersten (1.) in die zweite

(2.) Dimension überführt werden. Der Aufbau einer zweidimensionalen (2D) chromatographischen Anlage ist in Abb. 3 gezeigt.

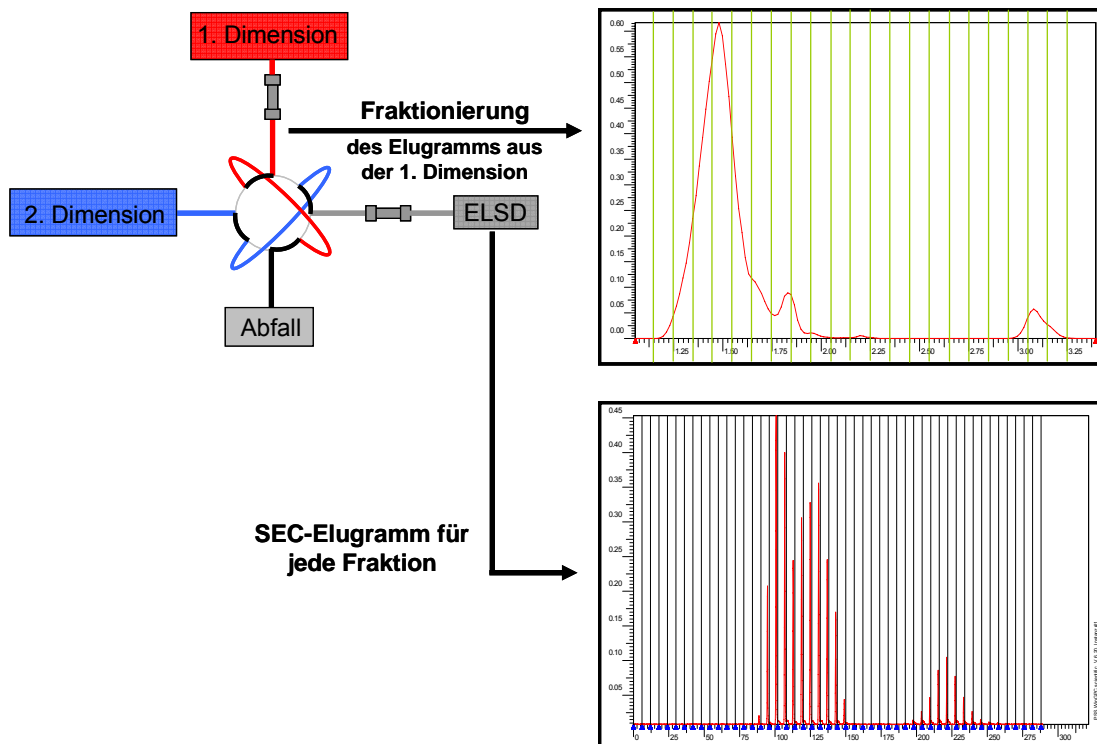


Abb. 3 Schema der 2D-Chromatographie

Das Eluat aus der 1. Dimension wird über zwei Speicherschleifen automatisiert und verlustfrei gesammelt und jeweils in die 2. Dimension injiziert. So erhält man zu jeder Fraktion aus der 1. Dimension ein weiteres Elugramm in der 2. Dimension^{32,33-41}. Um Probenverlust zu vermeiden, müssen die beiden Flussraten der 1. bzw. 2. Dimension aufeinander abgestimmt sein. Die Flussrate der 1. Dimension ist dabei sehr niedrig, während die Flussrate der 2. Dimension möglichst hoch gewählt werden soll, um den zeitlichen Bedarf eines 2D-Experimentes niedrig zu halten. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass durch eine hohe Flussrate die Auflösung vermindert werden kann. Eine sorgfältige Optimierung ist somit notwendig. Grundsätzlich ist jede Kopplung von zwei chromatographischen Modi denkbar. Um eine sinnvolle Kopplung zu erreichen, muss gewährleistet werden, dass jede Methode selektiv nur eine Verteilung auftrennt⁴². In der vorliegenden Arbeit werden die komplexen Polymerproben mittels 2D-Chromatographie untersucht^{43,44}. Dazu werden sie zuerst nach ihrer

chemischen Heterogenität aufgetrennt (LC-CC) und dann mittels SEC die Molekulargewichtsverteilung der entsprechenden Fraktionen bestimmt. Durch Auftragung des Elutionsvolumens der 1. Dimension auf der y-Achse gegen das Elutionsvolumen der 2. Dimension (bzw. die Molekulargewichte, die mittels einer geeigneten Kalibration bestimmt werden) auf der x-Achse, entstehen so genannte Konturplots wie in Abb. 4 gezeigt.

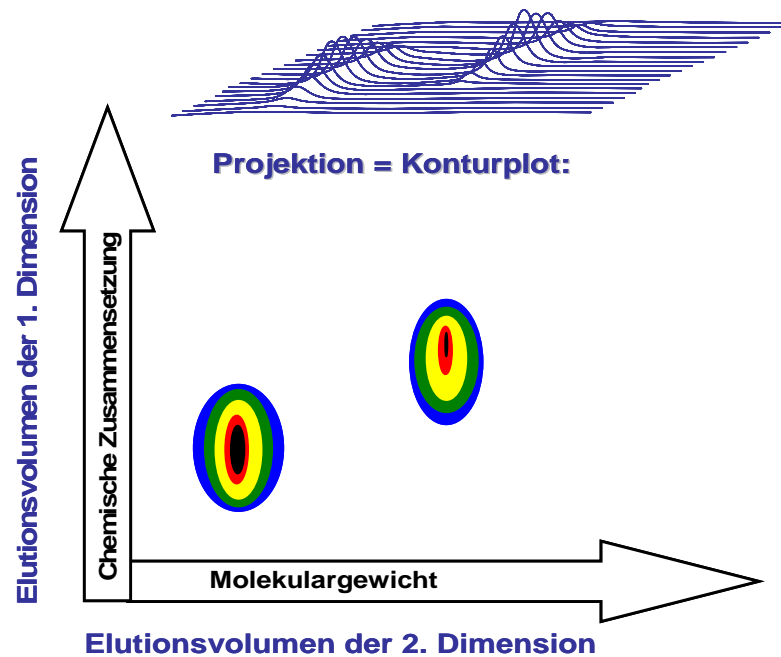


Abb. 4 Schematische Erklärung eines 2D-Konturplots

Die zahlreichen SEC-Elugramme der einzelnen Fraktionen aus der 1. Dimension werden ähnlich einer Landkarte in die Papierebene projiziert, wodurch man die typischen Konturdiagramme erhält.

Wie bei der eindimensionalen SEC nimmt auch hier das Molekulargewicht mit Zunahme des Elutionsvolumens ab (im Konturplot, wie in Abb. 4 gezeigt, nimmt das Molekulargewicht somit von links nach rechts ab). Durch den Einsatz einer unpolaren stationären Phase (C18-modifiziertes SiO_2) in der LC-CC (1. Dimension) eluieren die polaren Bestandteile zuerst, während unpolare Bestandteile, die mit dem Säulenmaterial wechselwirken, später eluieren. Demzufolge eluieren polare, hochmolekulare Polymere in beiden Dimensionen früh (d.h. sie sind im Konturdiagramm links unten zu finden) wohingegen unpolare niedermolekulare Bestandteile in beiden Dimensionen später (d.h. rechts oben im Konturplot) eluieren. Die chemische Zusammen-

setzung der Polymere ist auf der y-Achse, die Molekulargewichtsverteilung auf der x-Achse abzulesen.

Mit der 2D-Chromatographie können somit komplexe Polymerproben hinsichtlich Heterogenität und Molekulargewichtsverteilung miteinander verglichen werden.

2.7 Chromatographie von hydrophilen Polymeren

In der Chromatographie von hydrophilen Polymeren können zahlreiche Sekundäreffekte auftreten, die den „Idealfall“ der entsprechenden chromatographischen Methoden stören. Polymere mit Ladungen an den Polymerketten (Polyelektrolyte) zeigen derartige Effekte in besonderem Maße. Vor allem in der Größenausschlusschromatographie sind diese Effekte von großer Bedeutung.

Durch Wechselwirkungen zwischen den geladenen Gruppen an den Polymerketten und der stationären Phase kann es z.B. im SEC-Modus zur unerwünschten Adsorption kommen, wodurch der eigentlich entropisch bestimmte Trennmechanismus der SEC gestört wird. Im umgekehrten Fall ist es auch möglich, dass es zu einer elektrostatischen Abstoßung geladener Polymere von der Porenoberfläche der stationären Phase kommt, wodurch sich das scheinbare Porenvolumen verkleinert und eine einwandfreie Auswertung verhindert wird. Ein weiterer Effekt ist, dass sich bei geladenen Polymeren in Lösung Assoziate oder Mizellen bilden können, die ebenfalls das Ergebnis der SEC verfälschen. Derartige Effekte erschweren die Chromatographie von hydrophilen (geladenen) Polymeren.

Um solche Sekundäreffekte auszuschließen bzw. zu vermindern, entwickeln die Säulenhersteller stationäre Säulenmaterialien, die besonders wechselwirkungsarm sind. Zusätzlich versetzt man die mobile Phase mit niedermolekularen Elektrolyten, um so die Ladungen abzuschirmen⁴⁵⁻⁴⁹ und den Polyelektrolyteffekt^{50,54} zu verhindern. Bei diesem Effekt führt die intramolekulare Abstoßung von gleich geladenen Gruppen zu teilweiser Kettenversteifung. Dadurch steigt das hydrodynamische Volumen des Polymers, was sich wiederum auf das Ergebnis der SEC-Auswertung auswirken kann. Weiterhin wird beobachtet, dass die Viskosität mit sinkender

Polymerkonzentration steigt, wodurch sich die Druckverhältnisse innerhalb der chromatographischen Trennsäule verändern, was auch mit Problemen in der chromatographischen Trennung verbunden sein kann. Durch Zugabe von Fremdionen können die Ladungen abgeschirmt werden und die Viskosität bzw. die Knäuelgröße entsprechen den Werten von ungeladenen Polymeren⁵¹⁻⁵³.

Es sind mittlerweile einige chromatographische Methoden zur Bestimmung der chemischen Heterogenität von hydrophilen Polymeren bekannt. Vor allem Polymersysteme basierend auf Polyethylenglykol (PEG) sind gut erforscht^{5,28,54-61}. Hier sind chromatographische Bedingungen für die Normalphasen - (NP, polar) und Umkehrphasen - (reversed Phase, RP, unpolar) Chromatographie und die experimentellen Bedingungen für die kritischen Punkte der Adsorption von PEG auf unterschiedlichen stationären Phasen beschrieben.^{60,61} Auch PEG-Copolymere, und hier insbesondere PEG-PPG-Blockcopolymere, wurden umfassend charakterisiert.⁵⁹ Hier sind sogar mehrdimensionale chromatographische Methoden (LC-CC x SEC) realisiert worden.¹³ Es sind weiterhin auch einige Arbeiten zur Chromatographie von Polyacrylsäuren (PAS) und Polystyrolsulfonaten (PSS)⁶²⁻⁶³, sowie erste Arbeiten über hydrophile synthetische Copolymere bekannt⁶⁴⁻⁶⁶. Bei der Entwicklung einer LC-CC-Methode für PAS^{62,63} wurden SEC-Säulen und elektrolythaltige Eluentengemische eingesetzt. In den Arbeiten zur Charakterisierung von PEG-PMAS-Copolymeren⁶⁴ sind auch 2D-Experimente mit wässrigen Salzlösungen als mobile Phase der 2. Dimension beschrieben. Durch das Salz im Eluenten und die Notwendigkeit eines verdampfenden Lichtstreuendetektors (ELSD) ist man dabei auf den Einsatz von Ammoniumacetat (NH_4Ac) festgelegt.

3. Analytik von PEG-AS-HPA- Copolymeren

3.1 Proben

PEG-AS-HPA-Copolymere sind statistische Copolymere aus einem Polyethylenglykol-Makromonomeren sowie den Monomeren Acrylsäure (AS) und Hydroxypropylacrylat (HPA). Bei der Polymerisation entstehen kammartige Polymere (Abb. 5) mit Seitenketten, deren Länge vom eingesetzten PEG-Makromonomeren abhängt. Typischerweise werden PEG-Makromonomere mit Molekulargewichten von 1100 und/oder 5800 g/mol eingesetzt.

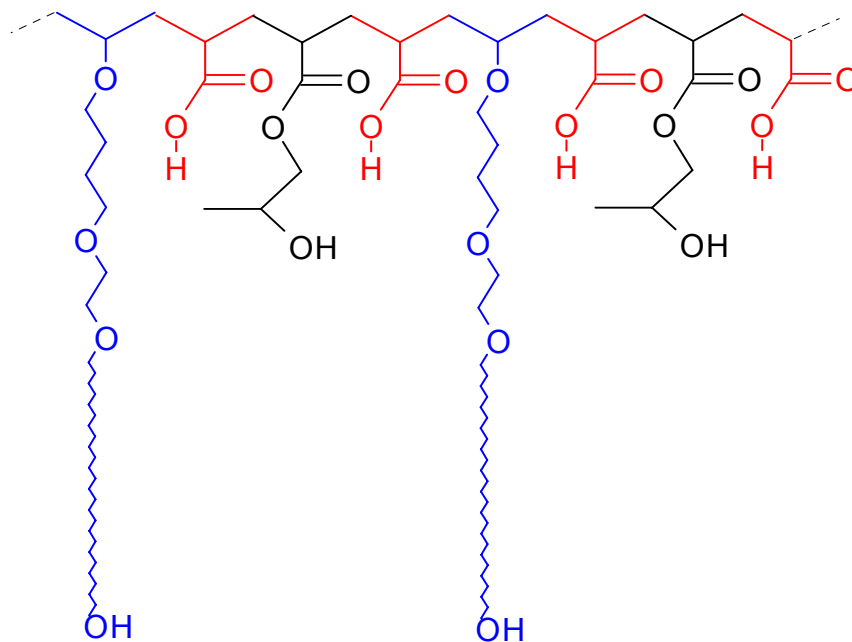


Abb. 5 Darstellung eines MVA-Copolymers; blau: PEG-Makromonomeres, rot: AS und schwarz: HPA

Bei der radikalischen Polymerisationsreaktion können neben dem gezeigten komplexen Copolymer einige Nebenprodukte gebildet werden. Durch die große Polymerisationsneigung der Acrylsäure ist nicht auszuschließen, dass Polyacrylsäure (PAS) entsteht. Außerdem ist es möglich, dass die reaktiven Endgruppen des PEG-Makromonomers durch Hydrolysereaktionen abgespalten werden. Dadurch entstehen Makromonomer-Hydrolyseprodukte, die

nicht in das Copolymer eingebaut werden können. Die möglichen Nebenreaktionen am PEG-Makromonomer können sowohl vor als auch während der Polymerisation ablaufen und sind abhängig vom pH-Wert. In Abb. 6 und Abb. 7 sind diese aufgezeigt.

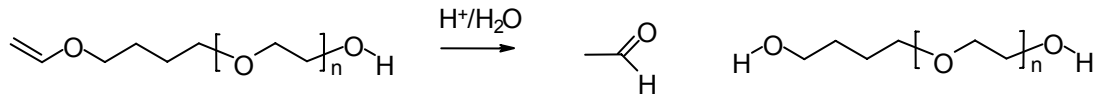


Abb. 6 Hydrolyse des Makromonomeren (saures Medium)

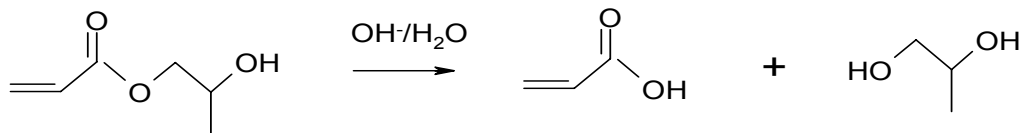


Abb. 7 Hydrolyse von HPA (alkalisches Medium)

Durch die in Abb. 6 gezeigte Reaktion wird der Einbau des Makromonomers in das Copolymer erniedrigt, da die polymerisierbare Endgruppe des PEG-Makromonomers eliminiert wird. Durch die in Abb. 7 beschriebene Reaktion steigt der AS-Anteil in der Reaktionsmischung.

Die analytische Fragestellung bei der Charakterisierung dieser Produkte ist die Auftrennung und Quantifizierung der unterschiedlichen Produkte, die bei der Polymerisation entstehen können. Durch das Vorliegen von AS im Copolymer erhält dieses einen Polyelektrolytcharakter. Abhängig vom pH-Wert können die AS-Anteile im Copolymer geladen (negativ durch Protonenabgabe), teilweise geladen (unvollständige Protonenabgabe) und ungeladen (protonierte Säuregruppen) vorliegen. Dies führt zu einer besonders komplizierten Analytik, da sich die verschiedenen beschriebenen geladenen und ungeladenen Copolymere chromatographisch unterschiedlich verhalten können.

Die Komplexität der Copolymere wird durch verschiedene Verteilungen hervorgerufen. Zum einen ist eine Molekulargewichtsverteilung des PEG-Makromonomers vorhanden, die durch die Polymerisation auch in das Copolymer eingebracht wird. Die Copolymere an sich weisen eine weitere Molekulargewichtsverteilung auf. Durch die Reaktionsbedingungen (radika-

lische Polymerisation) entstehen chemisch heterogene Copolymere, die je nach pH-Wert auch eine Ladungsverteilung aufweisen können.

Die beschriebenen PEG-AS-HPA-Copolymere sind von industriellem Interesse. Sie werden als Betonzusatzmittel^{67,68} eingesetzt. Durch Einsatz dieser Copolymere wird die Fließfähigkeit des Betons verbessert. Sie wirken im Betongemisch als Dispergiermittel, verhindern so die Agglomeration von Zementteilchen und verlangsamen den Aushärtungsprozess, so dass der Beton länger fließfähig und verarbeitbar bleibt.

Mögliche strukturelle oder chemische Unterschiede der Copolymere bzw. verschieden große Anteile an Nebenprodukten können mit stark variierenden Anwendungseigenschaften verbunden sein. Deshalb sollen die neu entwickelten analytischen Methoden Informationen zu Struktur-Eigenschafts-Beziehungen liefern und so zur Kontrolle und zur Optimierung des Syntheseprozesses herangezogen werden.

3.2 Entwicklung von chromatographischen Methoden zur Charakterisierung der PEG-Makromonomere

Wie bereits beschrieben, werden die PEG-AS-HPA-Copolymere aus einem PEG-Makromonomer sowie AS und HPA hergestellt. Einer der wichtigsten eigenschaftsbestimmenden Parameter der Copolymere ist die Konzentration und die Kettenlänge des eingebauten Makromonomers, die durch die Art und Reinheit des eingesetzten Makromonomers bestimmt werden.

Bei dem Makromonomer handelt es sich um ein großtechnisches Produkt, das durch Ethoxylierung von 4-Hydroxybutylvinylether hergestellt wird. Diese Polyaddition wird durch Methanolat gestartet. Spuren von Wasser oder MeOH können dazu führen, dass PEG oder methyliertes PEG (MPEG, DiMPEG) als Nebenprodukte gebildet werden, da beide Substanzen ebenfalls als Kettenstarter fungieren können. Weiterhin ist möglich, dass durch 1,4-Butandiol (Verunreinigung im Hydroxybutylmonovinylether) ein PEG mit mittig stehender Butylgruppe entsteht. Für eine Bewertung der Qualität des Makromonomers ist es deshalb erforderlich, neben der in allen Fällen auftretenden Molekulargewichtsverteilung auch die Funktionalitätsverteilung quantitativ zu bestimmen.

Für eine Endgruppenanalyse von PEG eignen sich spektroskopische (Infrarotspektroskopie, FTIR, Kernresonanzspektroskopie, NMR und Massenspektrometrie, MS) und chromatographische Methoden. Während die spektroskopischen Methoden nur Mittelwerte der Funktionalität liefern, ist es mit chromatographischen Methoden möglich, deren Verteilung zu bestimmen. So gestattet die LC-CC eine selektive Trennung nach Art und Anzahl der Endgruppen.

Im vorliegenden Fall wird der kritische Punkt der Adsorption von PEG eingestellt, da nur die Endgruppenverteilung der Makromonomeren unabhängig von den Molekulargewichten untersucht werden soll. Die kritischen Bedingungen müssen exakt eingestellt werden. Dazu sind folgende chromatographische Parameter zu beachten:

- Art der stationären Phase
- Zusammensetzung der mobilen Phase (Eluent)
- Temperatur

Als stationäre Phase wird eine RP-Phase (M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm)) gewählt. Die zu untersuchenden Proben bestehen aus dem sehr polaren Copolymer und dem weniger polaren Makromonomer bzw. dessen Hydrolyseprodukten. Um zu vermeiden, dass das Copolymer zu stark an die stationäre Phase adsorbiert, wurde ein unpolares Material gewählt. Damit wird gewährleistet, dass das Copolymer vollständig eluiert und sauber vom Makromonomer und dessen Hydrolyseprodukten getrennt wird. Als Eluent wird eine Mischung aus MeOH und Wasser (83,7 Vol-% : 16,3 Vol-%) eingesetzt.²² MeOH ist dabei das gute Lösungsmittel, das Wechselwirkungen an die stationäre Phase unterdrückt und das Polymere im SEC-Modus von der Säule eluieren lässt. Das Wasser verstärkt dagegen die Adsorption von PEG, da es das schlechtere Lösungsmittel ist. Durch Einstellen der oben genannten Zusammensetzung des Eluenten kann sowohl die Wechselwirkung des PEG ausgeschaltet als auch ein Molekulargewichtseffekt verhindert werden, so dass man die gewünschte Molekulargewichts-unabhängigkeit erhält. Die Säulentemperatur beträgt 35°C und man arbeitet bei einer Flussrate von 1 ml/min. Solche chromatographischen Bedingungen

zur Einstellung eines kritischen Punktes müssen für jedes System neu gesucht werden, da es selbst bei Einsatz einer Trennsäule der gleichen Art zu Unterschieden in der Chemie durch verschiedene Chargen der eingesetzten stationären Phasen kommen kann.

Durch die Synthese des PEG-Makromonomers sind neben dem Hauptprodukt und dem Abb. 6 zu entnehmenden Hydrolyseprodukt weitere Nebenprodukte vorhanden. Wie bereits oben erwähnt, können bei Anwesenheit von MeOH in der Reaktionsmischung Polymere mit ein oder zwei Methylendgruppen entstehen. Diese Polymere werden im Folgenden mit MPEG bzw. DiMPEG abgekürzt. Außerdem ist ein Nebenprodukt mit mittelständiger Butylgruppe denkbar. Dieses entsteht durch beidseitige Polymerisationsreaktion an 1,4-Butandiol, das als Verunreinigung im 4-Hydroxybutylvinylether, dem Edukt der Makromonomerherstellung, vorliegt. In einem ersten Schritt soll überprüft werden, ob sich die PEGs mit einer bzw. zwei Methylendgruppen in ihrem Elutionsverhalten von dem des PEG unterscheiden. Dazu werden alle Polymere einzeln mittels LC-CC untersucht. Die resultierenden Elugramme sind in Abb. 8 überlagert. Es ist zu sehen, dass die drei Polymere bei unterschiedlichen Elutionsvolumina eluieren.

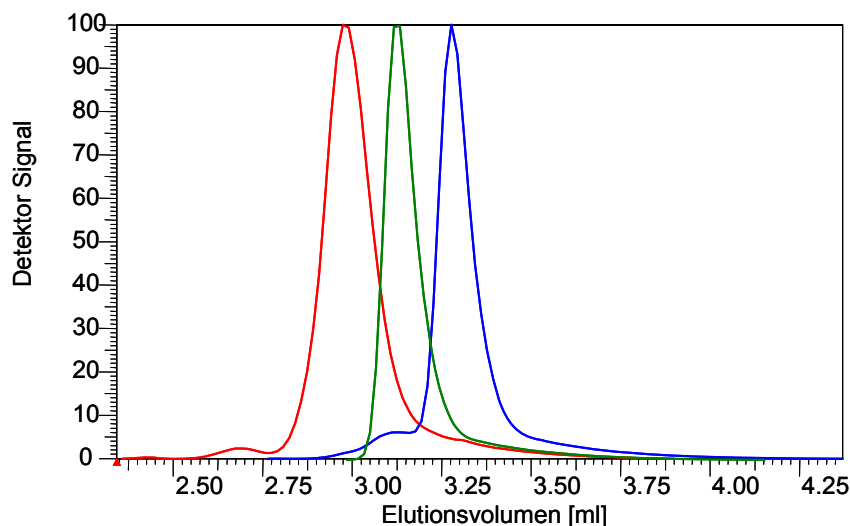


Abb. 8 Überlagerung der Elugramme von PEG (rot), MPEG (grün), DiMPEG (blau); Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Zur Verifizierung der in Abb. 8 dargestellten Trennung wurden Modellmischungen aus MPEG und DiMPEG, MPEG und PEG sowie PEG und DiMPEG hergestellt und untersucht. Die Ergebnisse hierzu sind Abb. 9 zu entnehmen.

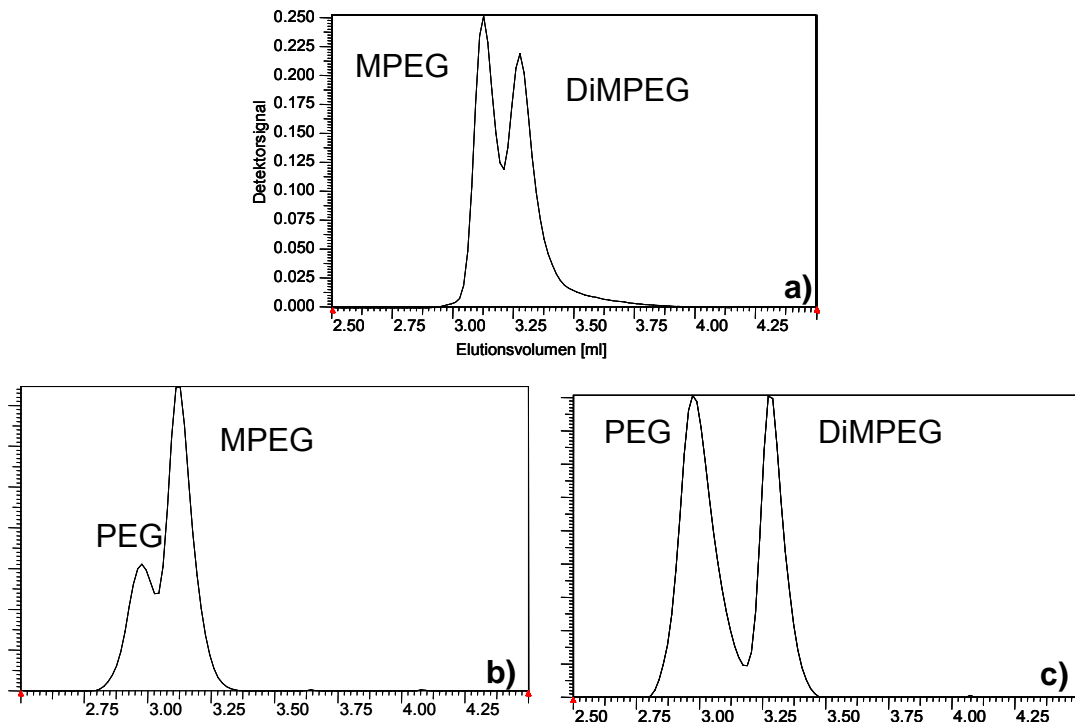


Abb. 9 LC-CC-Elugramme der Modellmischungen: a) MPEG/DiMPEG, b) MPEG/PEG und c) PEG/DiMPEG; Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

In Abb. 9 a) – c) wird deutlich, dass eine Trennung von PEG, MPEG und DiMPEG mit den gewählten chromatographischen Bedingungen am kritischen Punkt der Adsorption von PEG möglich ist. Zwar wurde keine Basislinientrennung erreicht, aber die Peaks der einzelnen Komponenten sind deutlich voneinander zu unterscheiden.

Nachdem PEG, MPEG und DiMPEG voneinander getrennt werden konnten, stellt sich die Frage, ob das Makromonomer unter den kritischen Bedingungen deutlich von den Nebenprodukten abgetrennt werden kann. Das Elugramm eines PEG-Makromonomers mit einem Molekulargewicht von 1100 g/mol ist in Abb. 10 zu sehen.

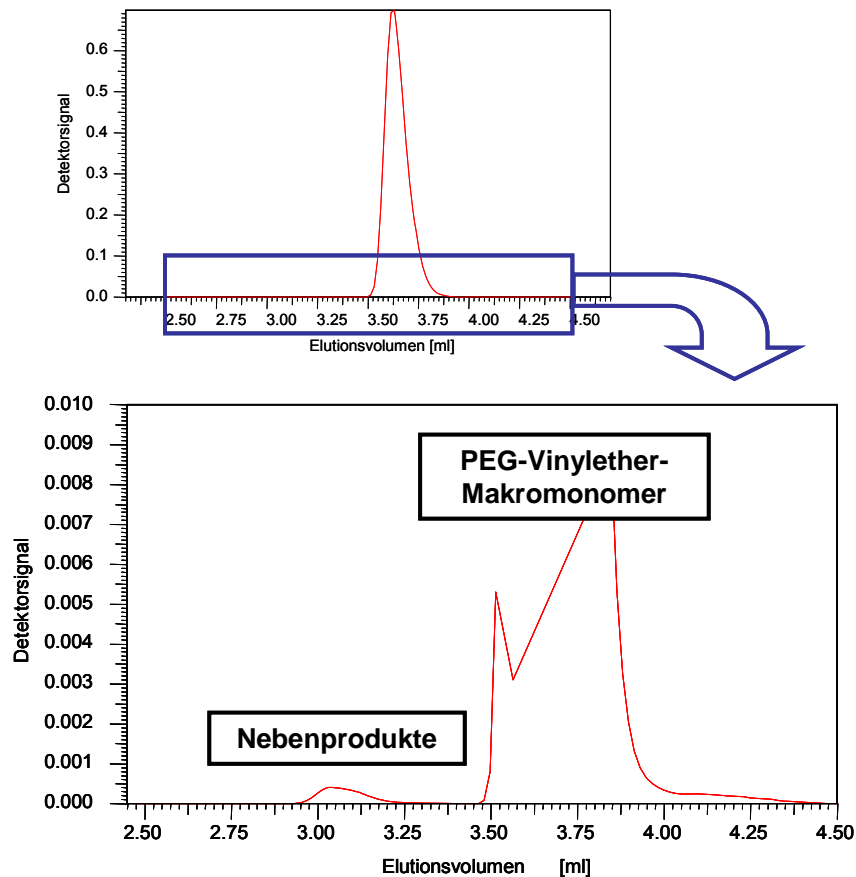


Abb. 10 LC-CC Elugramm eines Makromonomers (Hersteller A); Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Wie Abb. 10 zeigt, erhält man für das Makromonomer einen Peak bei einem Elutionsvolumen von 3,5 – 4,0 ml. Dieser deutet an, dass das vorliegende Produkt eine hohe Reinheit aufweist. Erst eine deutliche Vergrößerung des Chromatogramms macht einen zweiten Elutionspeak bei etwa 3,1 ml sichtbar, der auf Nebenprodukte hindeutet. Das Makromonomer und die Nebenprodukte können somit unter den beschriebenen Bedingungen basisliniengetrent werden.

Vinylether des PEG werden von verschiedenen Herstellern angeboten. Sie unterscheiden sich in Molekulargewicht und in der chemischen Zusammensetzung. Für die Anwendungseigenschaften des fertigen Produktes (PEG-AS-HPA-Copolymer) sind insbesondere die Nebenprodukte (nicht polymerisierbare Komponenten) von Bedeutung. Diese sollen im

Folgenden vom Makromonomer abgetrennt und herstellerabhängig (nachfolgend mit Hersteller A, B und C abgekürzt) analysiert werden.

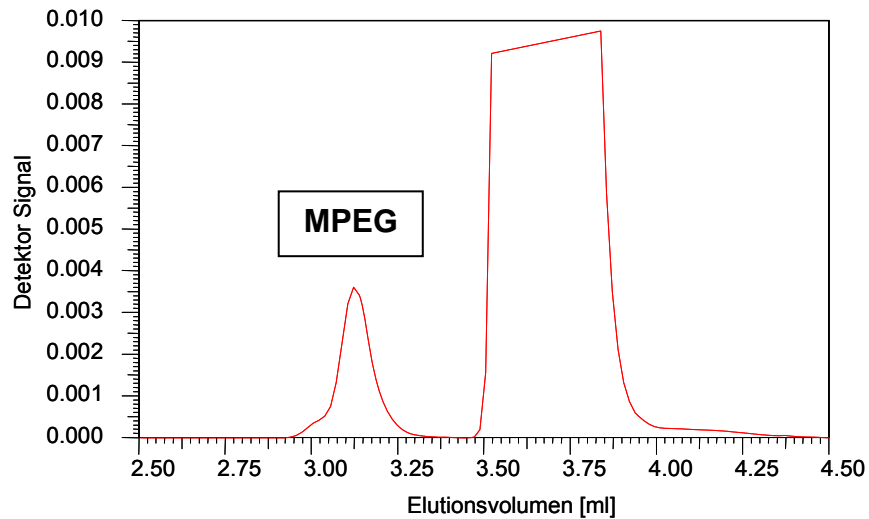


Abb. 11 LC-CC-Elugramm der Makromonomer-Probe 1100, Hersteller B; Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

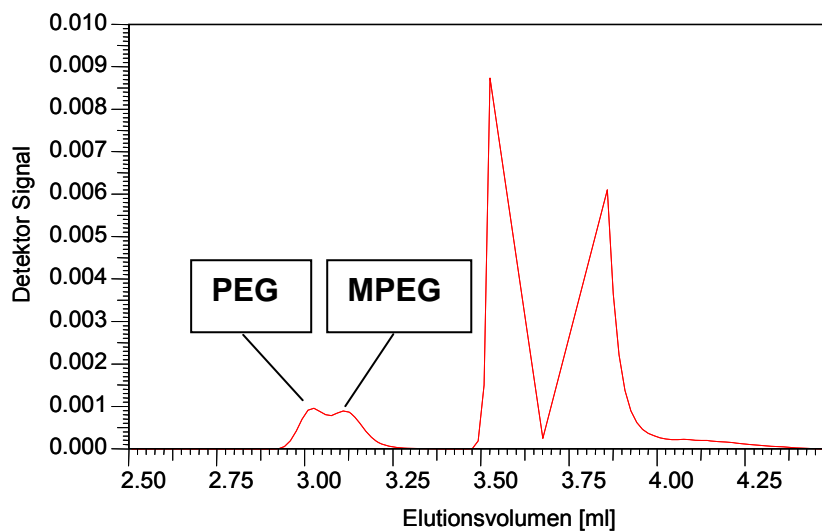


Abb. 12 LC-CC-Elugramm der Makromonomer-Probe 1100, Hersteller C; Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Vergleicht man Abb. 10 bis Abb. 12, so sieht man, dass abhängig vom Hersteller deutliche Unterschiede in der Qualität der Proben festzustellen

sind. Während bei Hersteller B eine große Menge MPEG als Nebenprodukt vorliegt (Abb. 11), ist bei Hersteller C PEG und MPEG nachweisbar. Das Produkt von Hersteller A (Abb. 10) weist den geringsten Anteil an Nebenprodukten auf. Auch bei den entsprechenden Produkten höherer Molekulargewichte sind diese Tendenzen zu erkennen: Das Makromonomer von Hersteller A ist das reinste Produkt. Es werden nur geringe Mengen an Nebenprodukt detektiert. Im Gegensatz dazu sind in den Produkten von Hersteller B die größten Nebenproduktanteile nachweisbar.

3.3 Quantifizierung der Nebenprodukte in den Makromonomeren

Nach der Auftrennung der PEG-Makromonomere und der entsprechenden Nebenprodukte sollen die Anteile quantifiziert werden. Bei allen chromatographischen Experimenten wird der verdampfende Lichtstreu-detektor (Evaporative Light Scattering Detector, ELSD) eingesetzt. Die Peakflächen im Chromatogramm sind sehr stark abhängig von der Polymerart, der Zusammensetzung der mobilen Phase, der Temperatur, der Flussrate, den eingestellten Detektorbedingungen, etc. Deshalb muss zur Quantifizierung nach der chromatographischen Trennung eine Detektor-kalibration durchgeführt werden. Dazu werden bekannte Mengen einer Polymerlösung mit genau eingestellter Konzentration auf die chromatographische Trennsäule injiziert und untersucht. Nach Auswertung der Peakflächen und Auftragung gegen die injizierten Massen ist es möglich, aus den Peakflächen in den Elugrammen unbekannter Proben die entsprechenden Massenanteile zu bestimmen. Die beschriebene Abhängigkeit des Detektorsignals ist in Abb. 13 dargestellt.

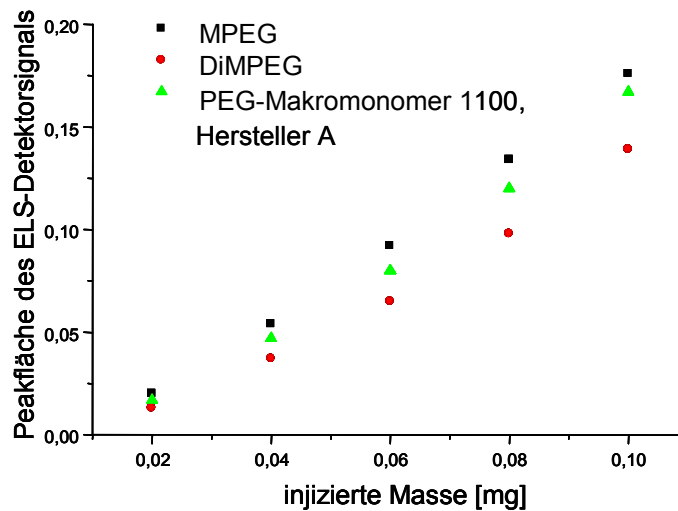


Abb. 13 Detektorkalibration für MPEG, DiMPEG und PEG-Makromonomer (Molekulargewicht = 1100 g/mol)

Die Kalibrationskurve für MPEG liefert die höchsten Signalintensitäten, während die Kurve von DiMPEG deutlich unter der von MPEG liegt. Das Makromonomer (hier: Hersteller A) liefert Signalintensitäten, die genau dazwischen liegen. Diese Tatsache bestätigt, dass für jedes System eine spezielle Kalibration durchgeführt werden muss. Zum Vergleich der Produkte der drei unterschiedlichen Hersteller werden die Nebenproduktanteile (NP) mit Hilfe der MPEG-Kalibration quantitativ ausgewertet. Eigentlich müsste jedoch zur Bestimmung des NP-Anteils jedes spezielle Nebenprodukt zur Kalibration verwendet werden. Diese standen jedoch nicht zur Verfügung. Die aus der MPEG-Kalibration ermittelten Anteile an NP von je zwei Proben der drei Hersteller sind in Tab. 1 in Form von Flächenanteilen (Fl.-%) und Gewichtsanteilen (Gew.-%) angegeben.

Tab. 1 Vergleich der Produkte unterschiedlicher Hersteller (MPEG-Kalibration)

Hersteller(Probe)		PEG-Makromonomer-NP M = 1100 g/mol			PEG-Makromonomer-NP M = 5800 g/mol		
		[FI-%]	[abs. FI.]	[Gew.-%]	[FI-%]	[abs. FI.]	[Gew.-%]
A	1	0,06	$5,03 \cdot 10^{-5}$	0,07	0,47	$3,34 \cdot 10^{-4}$	0,43
	2	0,17	$1,41 \cdot 10^{-4}$	0,18	0,46	$3,21 \cdot 10^{-4}$	0,42
B	1	0,43	$3,43 \cdot 10^{-4}$	0,45	1,98	$1,26 \cdot 10^{-3}$	1,64
	2	0,54	$4,18 \cdot 10^{-4}$	0,54	0,95	$6,18 \cdot 10^{-4}$	0,80
C	1	0,21	$1,56 \cdot 10^{-4}$	0,20			
	2	0,23	$1,92 \cdot 10^{-4}$	0,25			

Als Probe 1 und 2 wurden jeweils das Produkt mit dem höchsten und das mit dem niedrigsten NP-Anteil des jeweiligen Herstellers ausgewählt. Man kann sehr deutliche Unterschiede in den in Flächenprozent angegebenen Nebenproduktanteilen erkennen. Hersteller B liefert für beide PEG-Makromonomere jeweils das qualitativ schlechteste Produkt, während von Hersteller A das Makromonomer mit dem geringsten Nebenproduktanteil erhalten wird. Die aus der Detektorkalibration ermittelten Massen bzw. Gewichtsanteile der Nebenprodukte zeigen die gleichen Tendenzen.

Derartige Auswertungen sind vor allem für die Umsatzberechnung vor einer Polymerisationsreaktion von Bedeutung. Da das Nebenprodukt keine Vinyletherendgruppe mehr aufweist, ist es nicht mehr polymerisierbar und kann somit nicht in die Polymerkette eingebaut werden, wodurch der Umsatz der Polymerisation abnimmt. Dementsprechend sind LC-CC-Experimente von den PEG-Makromonomeren zur Bestimmung des Nebenproduktanteils vor einer Polymerisationsreaktion wichtig.

3.4 Entwicklung chromatographischer Methoden zur Charakterisierung von PEG-AS-Copolymeren

Die Analytik von Copolymeren aus mehr als zwei unterschiedlichen Monomeren ist kompliziert, weil die chemische Struktur und Polarität jedes

dieser Monomere zum chromatographischen Verhalten des Copolymers beiträgt. Daher ist es wichtig, bei der Entwicklung von chromatographischen Methoden zur Charakterisierung komplexer Copolymere schrittweise vorzugehen. Hier sollen dementsprechend zuerst binäre Copolymere aus PEG und AS untersucht werden, bevor die PEG-AS-HPA-Copolymere charakterisiert werden können.

3.4.1 Entwicklung einer SEC-Methode für PEG-AS-Copolymere

Der wichtigste eigenschaftsbestimmende Parameter einer Polymerprobe ist die Molekulargewichtsverteilung. Zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung wird die Größenausschlusschromatographie (engl. Size Exclusion Chromatography, SEC) herangezogen. Durch den Acrylsäureanteil in den Copolymeren sind diese in organischen Lösungsmitteln schlecht oder nicht löslich. Da Wasser ein gutes Lösungsmittel der Proben ist, wird Wasser als mobile Phase eingesetzt. Aus diesem Grund ist es jedoch nicht möglich, eine Styrol-Divinylbenzol-Phase als stationäre Phase einzusetzen, denn diese würde in Wasser kollabieren. Daher wird eine speziell entwickelte wasserkompatible Phase der Firma Polymer Laboratories (PL, Church Stretton, England) eingesetzt, die PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm). Diese chromatographische Trennsäule kann bis zu einer Flussrate von 5 ml/min problemlos betrieben werden, was im Hinblick auf spätere 2D-Experimente notwendig ist. Bei 2D-Experimenten sind die Flussraten der 1. und 2. Dimension aufeinander abzustimmen. Zur Verringerung der Analysenzeit ist es erstrebenswert, die Flussrate beider Dimensionen zu erhöhen. Diese Flussratenerhöhung ist im Falle der hier eingesetzten chromatographischen Trennsäule problemlos möglich.

Bei der Analyse von polaren und/oder zum Teil geladenen Polymeren in Wasser können jedoch verschiedene Arten von Wechselwirkungen zwischen den Polymermolekülen untereinander sowie zwischen Polymermolekülen und stationärer Phase auftreten. Solche Wechselwirkungen können auf den Polyelektrolyteffekt, Assoziat- oder Mizellbildung oder Adsorption zurückgeführt werden^{2,3}. Zur Umgehung dieser problematischen Effekte wird der mobilen Phase (Wasser) ein Salz zugesetzt. Dadurch ist es möglich, die Ladungen am Polymer abzuschirmen, so dass sich das Polymer neutral

verhält. Da bei allen chromatographischen Experimenten der ELSD eingesetzt wird, muss dieses Salz verdampfbar sein. Daher wird Ammoniumacetat (NH_4Ac) als Zusatz gewählt.

Die SEC soll zu einem ersten Vergleich mehrerer Copolymerproben herangezogen werden. Dies sind statistische PEG-AS-Copolymere mit PEG-Makromonomeren der Masse 5800 g/mol, welche als Labormuster in entsprechenden Rührreaktoren hergestellt wurden. Bei der Reaktion wird das Makromonomer und ein kleiner Teil der AS vorgelegt. Nach Zugabe des Initiators und dem damit verbundenen Start der Polymerisationsreaktion wird die restliche AS in Form einer wässrigen Lösung zudosiert. Die Angaben der Reaktionsführungen sind nachfolgender Tabelle zu entnehmen.

Tab. 2 Reaktionsbedingungen zur Herstellung der Copolymere 217 – 229⁸⁰

	Mol-Verhältnis		Temp. [°C]	pH-Wert der AS-Lösung	Wartezeit vor Reaktion [min]
	PEG 5800 g/mol	AS			
217	1	7	10	3,5	0,5
218	1	7	15	3,5	0,5
226	1	7	0	3,5	0,5
228	1	7	10	5,0	0,5
229	1	7	10	3,5	10,0

Wie aus Tab. 2 ersichtlich, wurden bei der Polymerisationsreaktion die Temperatur, der pH-Wert der zu dosierenden wässrigen AS-Lösung und die Wartezeit vor Reaktionsbeginn variiert. Bei Probe 229 wird nach Vorbereitung der Monomerlösung (Makromonomer und AS) im Reaktor 10 Minuten gewartet, bevor die Polymerisationsreaktion durch Zugabe von Initiator und weiterer AS-Monomerlösung gestartet wurde. Bei Probe 228 wird der höchste pH-Wert eingestellt und bei Probe 226 ist die Reaktionstemperatur am niedrigsten. Demgegenüber ist die Temperatur der Reaktion bei Probe 218 am höchsten. Welche Effekte sich durch diese unterschiedlichen Reaktionsbedingungen für die Molekulargewichtsverteilungen der Copolymere ergeben, soll durch SEC überprüft werden. Die resultierenden Eluogramme für Copolymer 217 – 229 sind Abb. 14 zu entnehmen.

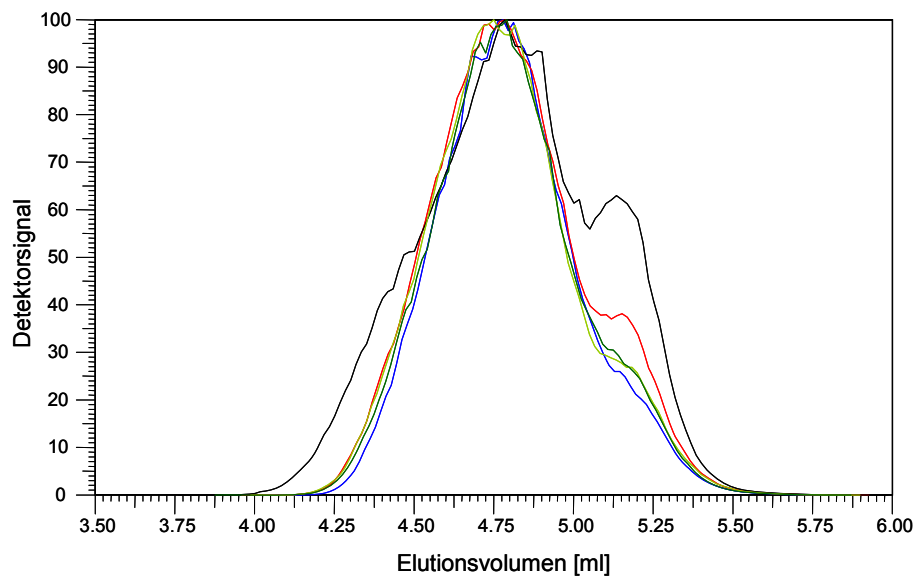


Abb. 14 Überlagerung der SEC-Elugramme verschiedener Copolymeren: 217 (blau), 218 (grün), 226 (hellgrün), 228 (schwarz) und 229 (rot); chromatographische Trennsäule: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm); Flussrate 1 ml/min

In Abb. 14 fällt auf, dass die Copolymer-Proben 217, 218 und 226 ein ähnliches Elutionsverhalten aufweisen. Probe 228 zeigt unter den gleichen chromatographischen Bedingungen im Vergleich zu den anderen Copolymer-Proben ein deutlich breiteres Elutionsverhalten mit einer ausgeprägten Schulter im niedermolekularen Bereich. Auch in Probe 229 ist eine solche Schulter zu sehen, die jedoch deutlich kleiner ist. Die Schulter ist auf einen großen Anteil an Nebenprodukt des PEG-Makromonomers zurückzuführen. Durch das Molekulargewicht des Makromonomers von 5800 g/mol ist keine bessere Abtrennung vom Copolymer möglich.

Mit einer geeigneten Kalibration können aus den Elugrammen Molekulargewichtsmittelwerte für die untersuchten Proben ermittelt werden. Im vorliegenden Fall wird eine PEG-Kalibration verwendet, da im Polymer ein großer Anteil an PEG vorhanden ist, und so zu erwarten ist, dass sich das Copolymer in Lösung ähnlich wie PEG verhält. Im Gegensatz zu einer PEG-Kalibration kann es bei einer PAS-Kalibration, die bei der Zusammensetzung der Copolymeren auch in Betracht gezogen werden könnte, zu Problemen im SEC-Mechanismus kommen. Möglicherweise treten Adsorptionseffekte auf, die die Elution nach dem SEC-Mechanismus stören.

Während ein typisches SEC-Experiment bei einer Flussrate von 1 ml/min durchgeführt wird, wird in einem 2D-Experiment die SEC (2. Dimension) bei einer sehr viel höheren Flussrate von bis zu 5 ml/min durchgeführt. Da eine deutliche Flussratenabhängigkeit der Elution gefunden wird (Abb. 15), muss die Kalibration immer bei der gleichen Flussrate durchgeführt werden wie auch das Experiment der auszuwertenden Probe.

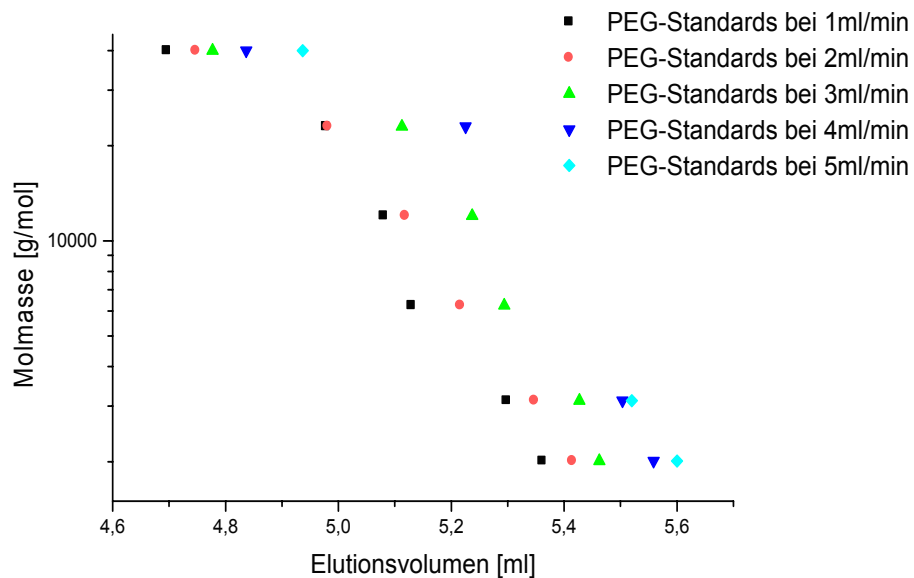


Abb. 15 Flussratenabhängigkeit der Kalibrationen in der SEC; chromatographische Trennsäule: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm)

Während die Unterschiede der Kalibrationskurven, die bei Flussraten von 1 und 2 ml/min erstellt wurden, noch ähnliche Werte liefern, unterscheiden sich die Kurven der Kalibrationen bei 3, 4 und 5 ml/min deutlich. Die Auswertung der in Abb. 14 gezeigten Elugramme liefert die in Tab. 3 aufgeführten Werte.

Tab. 3 SEC-Auswertung für die PEG-AS-Copolymere mittels PEG-Kalibration

Probe	M _n [g/mol]	M _w [g/mol]
Copolymer 217	17.300	39.000
Copolymer 218	17.400	39.300
Copolymer 226	17.300	40.500
Copolymer 228	13.800	43.800
Copolymer 229	16.100	39.200

Man erhält für die Copolymere mit Ausnahme von Probe 228 Molekulargewichtsmittelwerte von $M_n = 16.000 - 17.000$ g/mol und $M_w = 38.000 - 40.000$ g/mol, siehe Tab. 3. Probe 228 weist dagegen mit 13.800 g/mol einen wesentlich geringeren M_n -Wert auf. M_w von Probe 228 beträgt 43.800 g/mol und ist damit höher als bei den anderen Proben. Es kann daher vermutet werden, dass sich dieses Copolymer in seinen Anwendungseigenschaften von den anderen Copolymeren unterscheidet. Ein Vergleich der Anwendungseigenschaften ist in Abschnitt 3.9 beschrieben.

3.4.2 LC-CC-Untersuchung von PEG-AS-Copolymeren

Ziel dieser Arbeit ist die umfassende Charakterisierung der PEG-AS-HPA-Copolymere. Die chromatographische Auftrennung nach der chemischen Zusammensetzung ist im Falle von ternären Copolymeren jedoch schwierig. Zum einen ist bei der radikalischen Polymerisation vom PEG-Makromonomer, AS und HPA davon auszugehen, dass Produkte mit großer chemischer Heterogenität gebildet werden. Zum anderen ist zu erwarten, dass die sehr polaren AS-Einheiten die chromatographische Trennung negativ beeinflussen. Zur Vereinfachung wurden deshalb in einem ersten Schritt chromatographische Methoden für binäre Copolymere erarbeitet. Hier bieten sich Copolymere aus PEG-Makromonomeren und AS an, da derartige Produkte ebenfalls als wichtige Materialien in der Bauchemie eingesetzt werden.

Die Untersuchung der Copolymerproben soll auf der gleichen chromatographischen Trennsäule durchgeführt werden wie die Experimente zur Charakterisierung der PEG-Makromonomere. Es wird somit auch hier die unpolare M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 eingesetzt. Durch den polaren Anteil an Acrylsäure (AS) im Copolymer ist im Vergleich zu den PEG-Makromonomeren eine Verschiebung der Elution zu niedrigeren Elutionsvolumina zu erwarten, da der Einsatz einer unpolaren stationären Phase (C18-Endgruppen) zu einer geringeren Adsorption polarer Moleküle führt. Außerdem ist durch das Arbeiten am kritischen Punkt der Adsorption von PEG auch weiterhin eine Trennung zwischen Nebenprodukten und möglicherweise noch vorhandenem PEG-Makromonomer gegeben. Es ist also zu erwarten, dass bei der LC-CC der Polymerisationsprodukte zuerst die Copolymere eluieren, gefolgt von den Neben- und Hydrolyseprodukten des PEG-Makromonomers, das selbst als letztes von der Säule eluiert. In Abb. 16 ist eine Überlagerung von fünf Elugrammen verschiedener PEG-AS-Copolymere sowie dem Elugramm eines PEG-Makromonomers zu sehen.

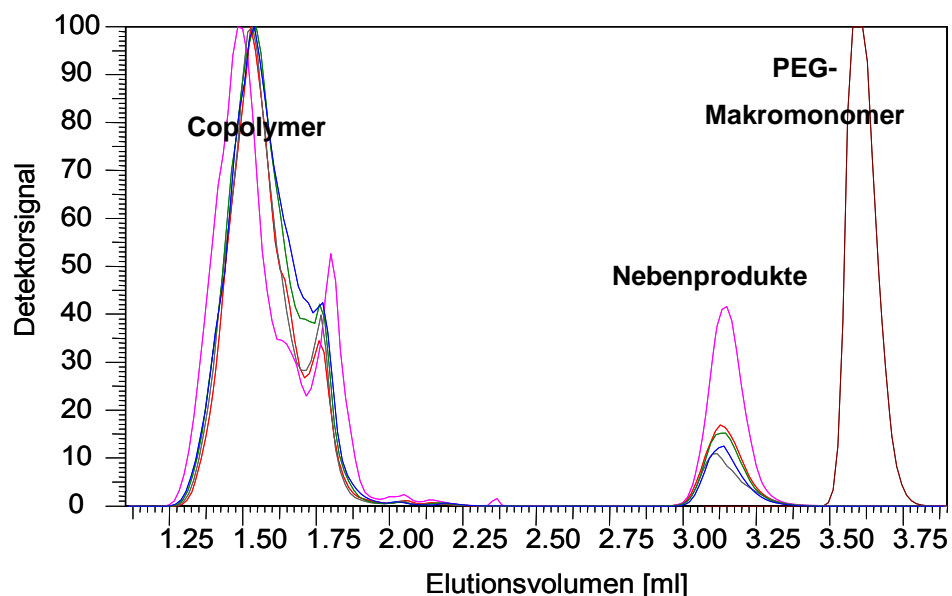


Abb. 16 Überlagerung der LC-CC-Elugramme verschiedener Copolymere und des PEG-Makromonomers (braun); Copolymere: 217 (blau), 218 (grün), 226 (grau), 228 (pink) und 229 (rot), Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Abb. 16 ist eindeutig zu entnehmen, dass das Copolymer, die Nebenprodukte und das PEG-Makromonomer unter den gewählten

chromatographischen Bedingungen gut voneinander getrennt werden. Die erwartete Elutionsreihenfolge wird bestätigt. Weiterhin ist festzustellen, dass in keiner Polymerprobe nicht umgesetztes PEG-Makromonomer zu finden ist. Es sind trotzdem deutliche Unterschiede zwischen den Copolymeren vorhanden. Neben den kleinen Unterschieden im Elutionsverhalten der Copolymere können unterschiedliche Anteile an Nebenprodukt detektiert werden. Diese Unterschiede sind auf die verschiedenen Synthesestrategien (Tab. 2) zurückzuführen. Bei der Herstellung von Copolymer 228 wird bei einem höheren pH-Wert gearbeitet, während bei Copolymer 218 und 226 die Temperatur verändert wird.

Durch die LC-CC sollen die Nebenproduktanteile verglichen werden. Die Auswertung der LC-CC ergibt die in Tab. 4 zusammengestellten Werte.

Tab. 4 Bestimmung der Nebenprodukte der Copolymere durch LC-CC

Probe	Nebenprodukt [Flächen-%]
217	6,3
218	8,3
226	7,1
228	17,7
229	10,3

Aus Tab. 4 geht hervor, dass die Probe 228 einen deutlich erhöhten Anteil an Nebenprodukt enthält. Vergleicht man die Werte der Nebenproduktanteile mit den Reaktionsbedingungen (Tab. 2), so kann man feststellen, dass bei der Herstellung dieses Polymers ein höherer pH-Wert (pH=5) vorlag. Durch den Zusammenhang zwischen pH-Wert und Polymerisations- bzw. Hydrolysegeschwindigkeit (bei sinkendem pH-Wert nimmt die Geschwindigkeit der Polymerisation deutlich zu) kommt es demnach bei höheren pH-Werten vermehrt zur Hydrolyse, da die Polymerisationsgeschwindigkeit unter diesen Bedingungen abnimmt. Die Reaktionsbedingungen der Synthese von Copolymer 217 sind im Hinblick auf die Nebenproduktbildung optimal. Hier wird der geringste Anteil an Nebenprodukt gefunden.

3.5 Entwicklung chromatographischer Methoden zur Charakterisierung von PEG-AS-HPA-Copolymeren

Nach der Charakterisierung der PEG-AS-Copolymere mittels SEC und LC-CC sollen im Folgenden die PEG-AS-HPA-Copolymere untersucht werden. Bei der Polymerisation dieser Copolymere wird ein PEG-Makromonomer mit einem Molekulargewicht von 1100 g/mol statt 5800 g/mol eingesetzt und zusätzlich wird das Monomer HPA zugefügt.

3.5.1 SEC der PEG-AS-HPA-Copolymere

Nach Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung der PEG-AS-Copolymere wird als nächstes das Verhalten der PEG-AS-HPA-Copolymere unter SEC-Bedingungen (wie in Abschnitt 3.4.1) untersucht. Der Unterschied zwischen diesen Copolymeren und den PEG-AS-Copolymeren ist der Zusatz des Monomers HPA und der Einsatz eines niedermolekulareren PEG-Makromonomers mit dem Molekulargewicht 1100 g/mol statt 5800 g/mol. Innerhalb des Copolymers gibt es demzufolge eine andere Verteilung bezüglich des Molekulargewichtes des PEG-Makromonomers (1100 g/mol) und eine Verteilung des zusätzlichen Monomers HPA. Die Komplexität des Copolymers wird somit erhöht. Für dieses Copolymersystem wurden ebenfalls Modellpolymere im Labormaßstab hergestellt. Die Unterschiede in der Synthese der Proben sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Tab. 5 Herstellungsbedingungen der PEG-AS-HPA-Copolymere 9 – 16⁸¹

Probe	Reaktionsbedingungen
9	Standard-Reaktionsführung (35% Monomervorlage, 21% Regler, Start-pH = 5,4, Start-Temperatur 15°C)
11	Alle Monomere und der Starter sind im Reaktor vorgelegt
13	AS/HPA-Mischung wird komplett zudosiert, nichts wird vorgelegt, pH-Wert wird nicht eingestellt vor der Reaktion
14	Starttemperatur: 40°C, Feststoffgehalt der Makromonomerlösung wird von 56 auf 80% gesteigert
15	Starttemperatur: 20°C, pH-Wert der Monomerlösung wird von 4 auf 6 gesteigert
16	65% der Monomerlösung werden linear zudosiert

Die molaren Anteile der drei Monomere sind in allen sechs Proben PEG 1100 : AS : HPA = 2,75 : 5,45 : 0,4. Die Reaktionsführungen der Synthesen der PEG-AS-HPA-Copolymere werden deutlich variiert. Während Probe 9 einer typischen kommerziellen Probe entspricht, werden die Dosierungen der Monomere sowie der pH-Wert und die Temperatur bei den übrigen Proben variiert. Es sind daher deutliche Unterschiede in der chemischen Struktur und der Molekulargewichtsverteilung zu erwarten.

Betrachtet man die SEC-Elugramme dieser PEG-AS-HPA-Copolymere (Abb. 17) und die der PEG-AS-Copolymere (Abb. 14), wird bei den PEG-AS-HPA-Copolymere ein kleiner niedermolekularer Anteil nachgewiesen. Dieser ist entweder auf nicht einpolymerisiertes PEG-Makromonomer (Molekulargewicht 1100 g/mol) oder dessen Neben- oder Hydrolyseprodukt zurückzuführen. Die Polymere untereinander weisen auch kleinere Unterschiede im Elutionsverhalten auf, was Abb. 17 zu entnehmen ist.

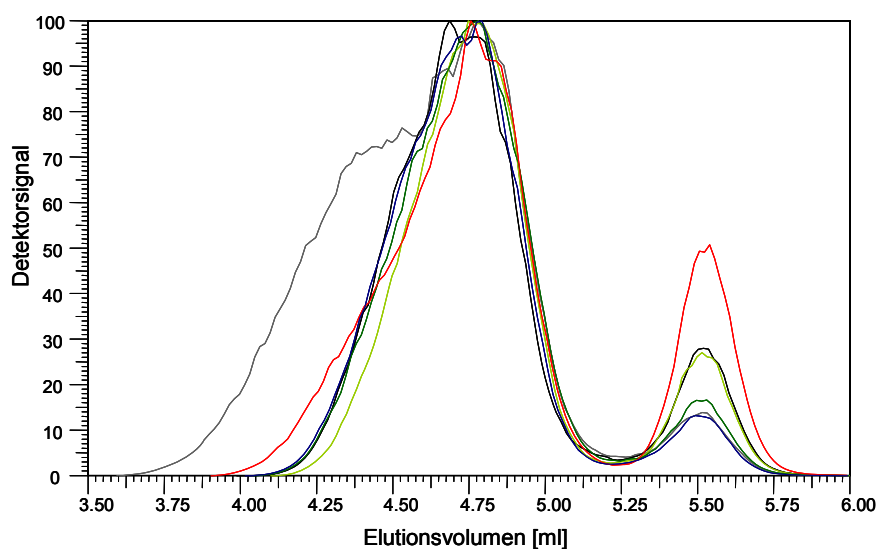


Abb. 17 Überlagerung der SEC-Elugramme verschiedener PEG-AS-HPA-Copolymere: 9 (blau), 11 (rot), 13 (grün), 14 (hellgrün), 15 (schwarz) und 16 (grau); chromatographische Trennsäule: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm); Flussrate 1 ml/min

Während bei den Proben 9 -15 nur der niedermolekulare Anteil variiert, so ist das Elutionsverhalten von Probe 16 im Vergleich zu den anderen Copolymeren deutlich unterschiedlich. Diese Copolymerprobe weist als einzige eine hochmolekulare Flanke auf.

Auch im Falle der PEG-AS-HPA-Copolymere wird eine PEG-Kalibration zur Ermittlung der Molekulargewichtsmittelwerte benutzt. Diese Mittelwerte sind in Tab. 6 zusammengestellt.

Tab. 6 SEC-Auswertung für die PEG-AS-HPA-Copolymere mittels PEG-Kalibration

Probe	M _n (Peak 1)	M _w (Peak 1)	M _n (Peak 2)	M _w (Peak 2)
9	35.700	53.400	890	1.200
11	34.300	59.000	750	980
13	33.100	50.400	860	1.100
14	32.300	45.900	810	1.050
15	36.200	53.100	800	1.100
16	44.200	105.800	870	1.100

Die Copolymere 9 – 15 weisen ähnliche Werte für M_n und M_w auf, während Copolymerprobe 16 einen etwas höheren M_n -Wert und einen doppelt so hohen M_w -Wert im Vergleich zu den anderen Proben liefert. Dieser M_w -Wert ist auf die hochmolekulare Flanke im Elutionspeak von Probe 16 zurückzuführen. Das zu detektierende niedermolekulare Produkt weist in allen Fällen ein Molekulargewicht von ca. 1000 g/mol auf, was bestätigt, dass es sich hier um nicht in das Polymer eingebautes PEG-Makromonomer bzw. dessen Hydrolyseprodukt handelt. Ein entsprechendes Produkt aus dem PEG-Makromonomer mit einem Molekulargewicht von 5800 g/mol kann bei der SEC nicht in das Copolymer und das Makromonomer getrennt werden (Abb. 14), weil die Differenz zum Molekulargewicht der Copolymeren zu gering ist.

3.5.2 LC-CC-Untersuchungen von PEG-AS-HPA-Copolymeren

Durch den Einbau des Hydroxypropylacrylats (HPA) in die Copolymerkette erhält man die im Vergleich zu den PEG-AS-Copolymeren komplexere PEG-AS-HPA-Copolymere. Durch diese veränderte chemische Struktur wird möglicherweise auch das Elutionsverhalten des entstehenden komplexen Copolymers im Vergleich zu dem eines binären PEG-AS-Copolymers verändert. Trotzdem werden die Copolymere mittels LC-CC (unter den in Abschnitt 3.2 beschriebenen chromatographischen Bedingungen) untersucht. Es ist wiederum zu erwarten, dass das Copolymer bei sehr niedrigen Elutionsvolumina eluiert, bevor das Neben- bzw. Hydrolyseprodukt und das PEG-Makromonomer die chromatographische Säule verlassen. Das Elutionsverhalten der neuen Copolymere ist komplexer als das der binären Copolymere, was durch Abb. 18 bestätigt wird.

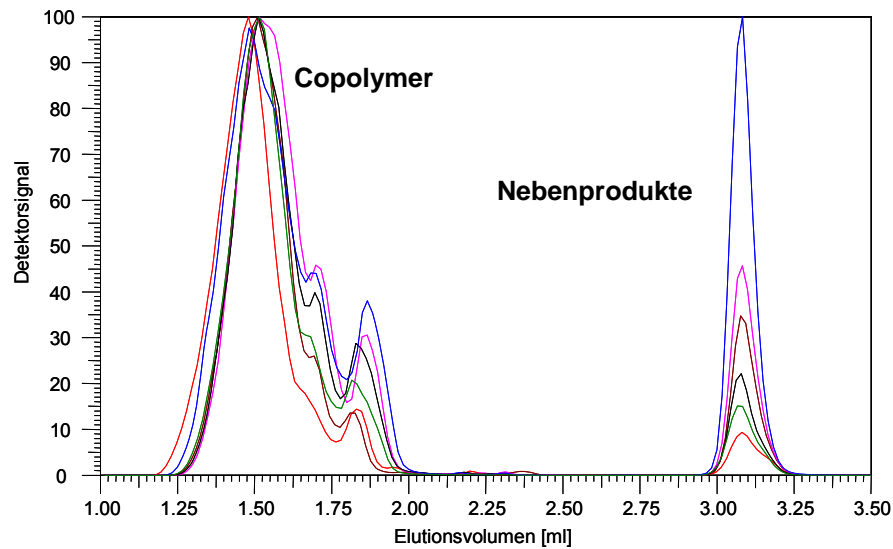


Abb. 18 Überlagerung der LC-CC-Elugramme verschiedener PEG-AS-HPA-Copolymere: 9 (grün), 11 (blau), 13 (schwarz), 14 (pink), 15 (braun) und 16 (rot), Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Im Vergleich zu Abb. 16, den LC-CC-Elugrammen der PEG-AS-Copolymere, sind die PEG-AS-HPA-Copolymere etwas breiter verteilt, was durch die Zunahme der Komplexität durch das weitere Monomer im chemischen Aufbau der Copolymere erklärt werden kann. Das Nebenprodukt kann auch in diesem Fall klar abgetrennt und quantifiziert werden. Hier sind bei den verschiedenen Modell-Copolymeren sehr starke Unterschiede zu erkennen. Polymer 11 enthält einen sehr großen Anteil an Nebenprodukt, während in Copolymer 16 nur ein sehr kleiner Nebenproduktanteil zu detektieren ist. Die Unterschiede in der Reaktionsführung wurden anhand von Tab. 5 aufgezeigt. Durch die starke Variation der Zudosierung der einzelnen Monomere in den Polymerisationsreaktionen sind auch größere Unterschiede im Nebenproduktanteil zu erwarten. Diese Anteile sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Tab. 7 Auswertung der LC-CC-Elugramme der PEG-AS-HPA-Copolymere 9-16

Probe	Nebenprodukt [Flächen-%]
9	6,4
11	22,0
13	7,5
14	13,3
15	12,7
16	4,5

Während in den Proben 9, 13 und 16 besonders wenig Nebenprodukt zu finden ist, weist Copolymer 11 mit 22 Flächen-% den größten Anteil auf. Da in diesem Fall alle Monomere vollständig im Reaktor vorgelegt wurden, ist dieser Effekt zu erwarten. Die Hydrolyse des Makromonomers wird hier durch den niedrigen pH-Wert begünstigt. Dosierte man die Monomerlösung dagegen über einen längeren Zeitraum linear zu (Copolymer 16), so wird kaum Nebenprodukt gebildet. Es kommt jedoch zu einer Verbreiterung der Molekulargewichts- und der chemischen Verteilung. Auch die chemische Heterogenität der Probe könnte im Hinblick auf die späteren Anwendungseigenschaften von Bedeutung sein. Diese ist jedoch nicht hinreichend genau aus den Ergebnissen der LC-CC zu entnehmen.

Es wird deutlich, dass die LC-CC (PEG) eine gute Methode für einen ersten Vergleich unterschiedlicher Edukte bzw. auch verschiedener Copolymere ist. Durch die Bestimmung des Nebenproduktanteils können erste Hinweise auf die Anwendungseigenschaften der Polymere erhalten werden.

Eine umfassende Aussage über die Chemie der Polymerproben ist durch diese Methode alleine jedoch nicht möglich. Aus der chemischen Verteilung des Copolymers können keine Hinweise auf Molekulargewichtverteilungen der einzelnen Bestandteile gezogen werden. Umgekehrt kann die SEC keine Aussagen zur chemischen Verteilung der Copolymere liefern. Eine Korrelation der beiden Verteilungen ist an dieser Stelle nicht möglich.

3.6 Gradientenchromatographie zum Nachweis von Polyacrylsäure

Bei der Synthese der PEG-AS- bzw. der PEG-AS-HPA-Copolymere wird AS zum Teil vorgelegt und zum Teil zudosiert. Durch die starke Polymerisationsneigung der AS stellt sich an dieser Stelle die Frage, ob unter den entsprechenden Reaktionsbedingungen Polyacrylsäure (PAS) entsteht. Weder in der LC-CC noch in der SEC können mögliche Polyacrylsäure-Anteile nachgewiesen werden. Um zu überprüfen, ob PAS in den Copolymerproben enthalten ist, soll eine chromatographische Methode zur Detektion von PAS entwickelt werden. Problematisch an dieser Stelle ist, dass es sich bei PAS um ein sehr polares Polymer handelt, das sowohl neutral, teilweise dissoziiert oder vollständig dissoziiert vorliegen kann. Es kommt somit zu einer weiteren Verteilung, einer Ladungsverteilung.

Die in den Abschnitten 3.2, 3.4.2 und 3.5.2 beschriebene chromatographische Trennsäule NUCLEOSIL C18 ist, wie die meisten kommerziellen RP-Phasen, eine modifizierte SiO₂-Phase. Durch die Modifizierung werden an die polaren OH-Endgruppen des SiO₂ C18-Ketten angebunden. Diese Modifizierung verläuft jedoch nie vollständig. D.h. dass an allen silikabasierenden RP-Phasen noch Rest-Silanolgruppen vorhanden sind. Die Polarität der PAS bewirkt, dass starke und irreversible Wechselwirkungen zu diesen Rest-OH-Gruppen der stationären Phase auftreten, so dass die Elution der PAS verhindert wird. Um sicher zu gehen, dass keine Rest-Silanolgruppen an der stationären Phase vorhanden sind, wird im Folgenden eine chromatographische Trennsäule mit polymerbasierender stationärer Phase eingesetzt: die von Polymer Laboratories (PL, England) entwickelte PL RP-S 100Å 5µm (150 x 4,6mm). Zur Trennung der PAS und der Copolymere wurde der in Tab. 8 aufgeführte Gradient entwickelt. Es wird bei einer Säulentemperatur von 50°C und einer Flussrate von 1 ml/min gearbeitet.

Tab. 8 Gradient zur Abtrennung von PAS

Zeit [min]	MeOH/Wasser 70/30	Wasser	THF
0	100	0	0
2	100	0	0
3	0	100	0
3,5	0	100	0
13,5	0	70	30
14,5	0	70	30
16,5	0	50	50
17,5	100	0	0

Mit dem in Tab. 8 beschriebenen Gradienten ist es möglich, PAS von allen Copolymerfraktionen abzutrennen. Dies ist in Abb. 19 anhand der chromatographischen Auftrennung unterschiedlicher Modellmischungen zu sehen.

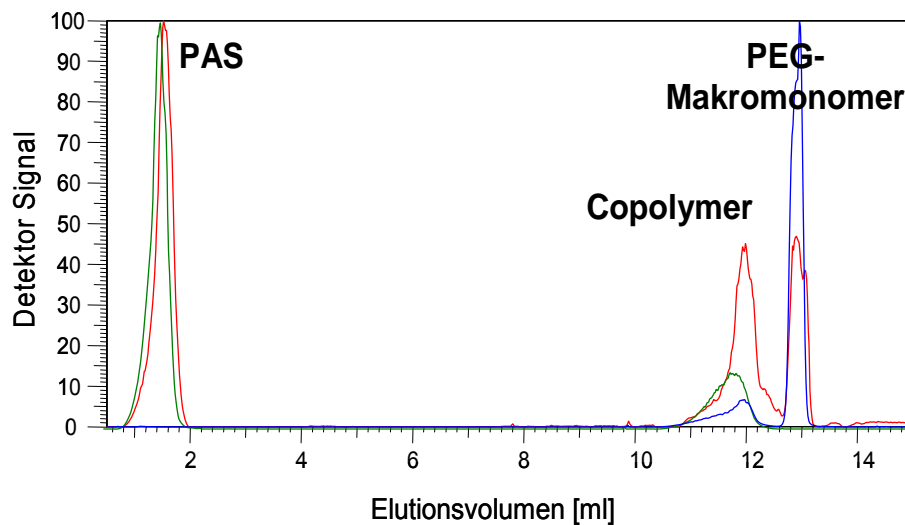


Abb. 19 Überlagerung der Elugramme von PAS, einem Copolymer und einem PEG-Makromonomer in verschiedenen Mischungen: Copolymer 217 + PAS 2000 (grün), PEG-Makromonomer + Copolymer 217 (blau), Copolymer 217 + PAS 2000 + PEG-Makromonomer (rot); Säule: PL RP-S 100Å 5µm (150 x 4,6mm); Flussrate: 1 ml/min, Eluent: siehe Gradient in Tab. 8

In Abb. 19 sieht man, dass zwar eine Trennung von PAS und den Copolymeren möglich ist. Es kann jedoch keine Auftrennung zwischen Copolymer und Nebenprodukt erzielt werden. Dementsprechend liefert die Gradientenmethode nur Aussagen zur Anwesenheit von PAS, nicht aber zum

Nebenproduktanteil. Die Untersuchung der binären Copolymere mittels Gradientenchromatographie liefert keine Hinweise auf PAS in den Proben.

Die PEG-AS-HPA-Copolymere zeigen in der Gradientenanalyse nur zum Teil Spuren von PAS. Die entsprechenden Elugramme sind in nachfolgender Abbildung in Form einer Überlagerung dargestellt.

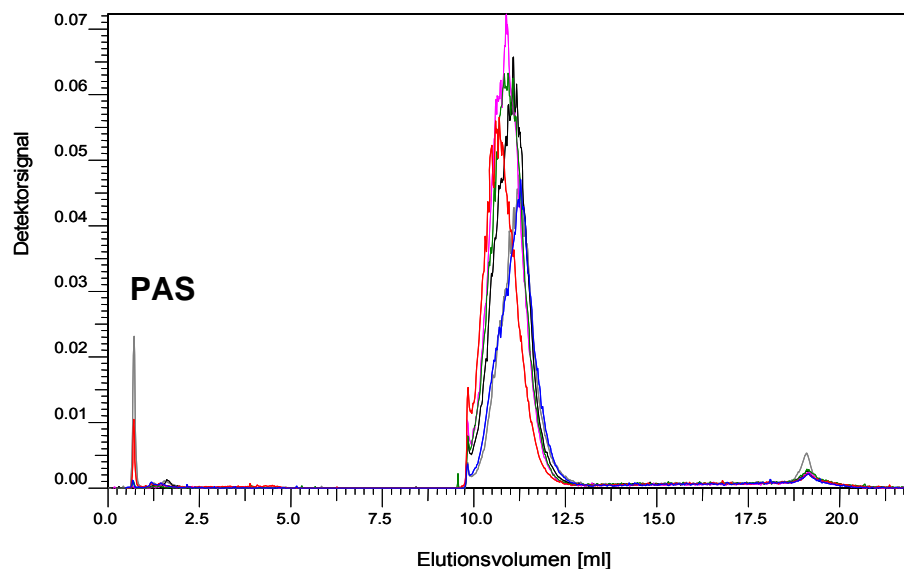


Abb. 20 Überlagerung der Elugramme von PEG-AS-HPA-Copolymer 9 (blau), 11 (rot), 13 (grün), 14 (rosa), 15 (schwarz), 16 (grau) aus der Gradientenchromatographie; Säule: PL RP-S, Flussrate: 1 ml/min, Eluent: Gradient aus Tab. 8

In Abb. 20 sieht man, dass lediglich in den Copolymeren 11 und 16 geringe Mengen an PAS gefunden werden. Dabei ist der PAS-Anteil in Copolymer 16 etwa doppelt so hoch wie in Copolymer 11. Dieser relativ große PAS-Anteil führt zusammen mit der breiteren Molekulargewichtsverteilung dazu, dass sich Copolymer 16 besonders stark von den anderen Copolymeren unterscheidet.

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass die Responsefaktoren der verschiedenen aufgetrennten Bestandteile sehr unterschiedlich sein können. Um die Abhängigkeit des Detektorsignals von den Messbedingungen ein weiteres Mal zu verdeutlichen sind chromatographische Experimente mit zwei verschiedenen Polymeren (PEG und PAS) bei unterschiedlichen Eluentzusammensetzungen durchgeführt worden. Ohne chromatographische Trennsäule werden beide Polymere in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst und in den Detektor injiziert. Die

Signalintensitäten werden dann gegen die injizierte Masse aufgetragen. So erhält man die Detektorkalibrationen, die in Abb. 21 zusammengefasst sind.

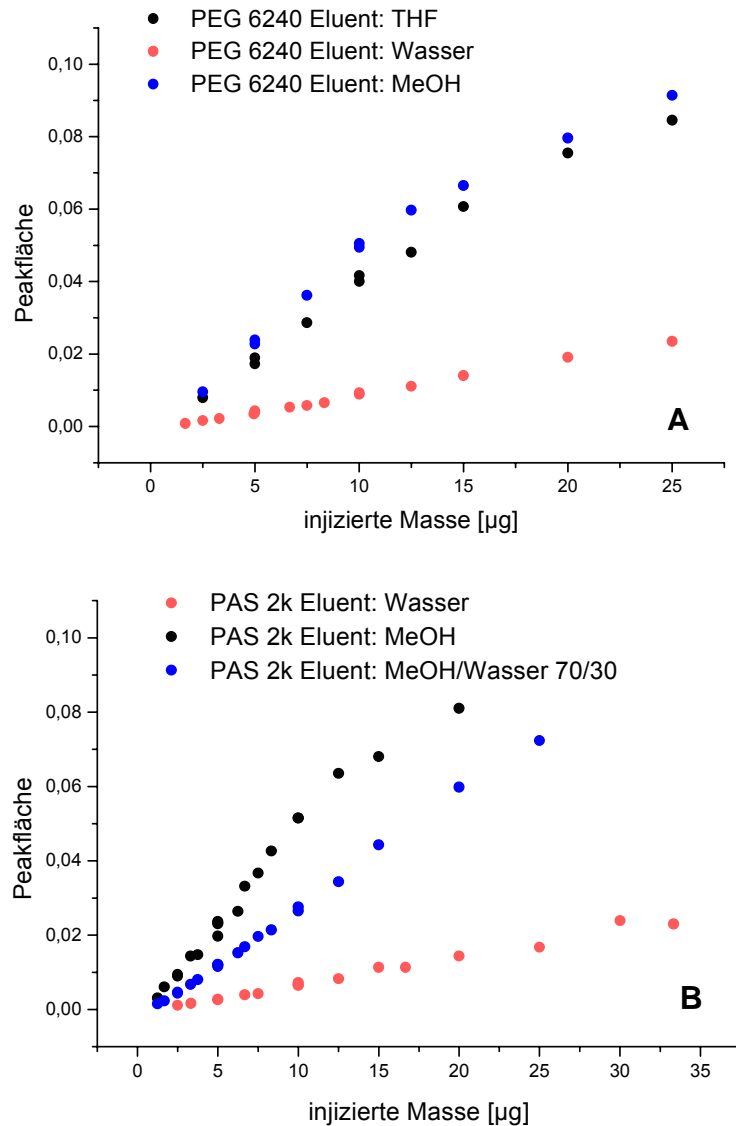


Abb. 21 Detektorkalibrationen für PEG 6240 (A), und PAS 2k (B) bei unterschiedlichen Eluenten; Flussrate: 1 ml/min

In Abb. 21 sind deutliche Unterschiede in den Signalintensitäten für PEG (A) in unterschiedlichen Lösungsmitteln/Eluenten erkennbar. In den organischen Lösungsmitteln MeOH und THF erhält man hohe Signalintensitäten, während man PEG in Wasser sehr viel schlechter detektieren kann. Diese Tatsache ist möglicherweise auf die bessere Verdampfbarkeit der organischen Lösungsmittel zurückzuführen. Dadurch entstehen sehr wahrscheinlich kleine feste Polymerpartikel, die durch Lichtstreuung gut zu detektieren sind. Bei

Wasser als mobiler Phase ist die Verdampfung deutlich erschwert, so dass möglicherweise keine festen Partikel sondern Aerosole der Polymere in Wasser in der Lichtstreuizelle ankommen. Diese ergeben nach Lichtstreuung eine andere Signalintensität. Im Vergleich zu PEG ist PAS (B) in Wasser etwas besser zu detektieren. In MeOH bzw. einer MeOH/Wasser-Mischung liefert PAS jedoch ebenfalls sehr viel höhere Signalintensitäten.

Diese Ergebnisse bestätigen, dass für quantitative Auswertungen der Detektorsignale immer eine sorgfältige Detektorkalibration notwendig ist. Dazu darf während der Kalibration kein chromatographischer Parameter verändert werden. In der Gradientenchromatographie bedeutet dies, dass für jedes Kalibrationsexperiment der ganze Gradient durchlaufen werden muss, auch wenn, wie bei den vorliegenden Trennungen, die PAS sehr früh von der Säule eluiert wird.

3.7 LC-CC als Mittel zur Reaktionskontrolle

Durch die gute Auftrennung von Copolymer und Nebenprodukt bzw. Edukt (Kapitel 3.4.2, 3.5.2 bzw. 3.2) kann die LC-CC auch zur direkten Reaktionskontrolle eingesetzt werden. Die basisliniengetrennten Peaks können mit Hilfe der Software ausgewertet und ins Verhältnis gesetzt werden. Zur kinetischen Verfolgung wird eine Polymerisationsreaktion im Labormaßstab durchgeführt, bei der die Standardbedingungen der Reaktion von PEG-Makromonomer (1100 g/mol) und AS im großtechnischen Reaktor nachgestellt werden. Zu unterschiedlichen Zeiten der Reaktion werden Proben aus der Reaktionsmischung entnommen und diese möglichst zeitnah mittels LC-CC untersucht. Die erste Probe (0-Probe) wird gezogen, wenn das PEG-Makromonomer vollständig vorgelegt ist. Nach Vorlage aller Bestandteile der Reaktion wird die nächste Probe (1-Probe) entnommen. Dann wird mit der Zudosierung der AS begonnen. Nach 1 (2-Probe), 6 (3-Probe), 11 (4-Probe), 16 (5-Probe) und 30 Minuten (6-Probe) werden weitere Proben aus der Reaktionsmischung entnommen. Mit Beendigung der Reaktion (7-Probe) und Einstellung eines pH-Wertes von 7 (8-Probe) werden die letzten Proben entnommen. Die LC-CC-Elugramme aller Proben der

Polymerisationsreaktion sind in Abb. 22 in Form einer Überlagerung dargestellt.

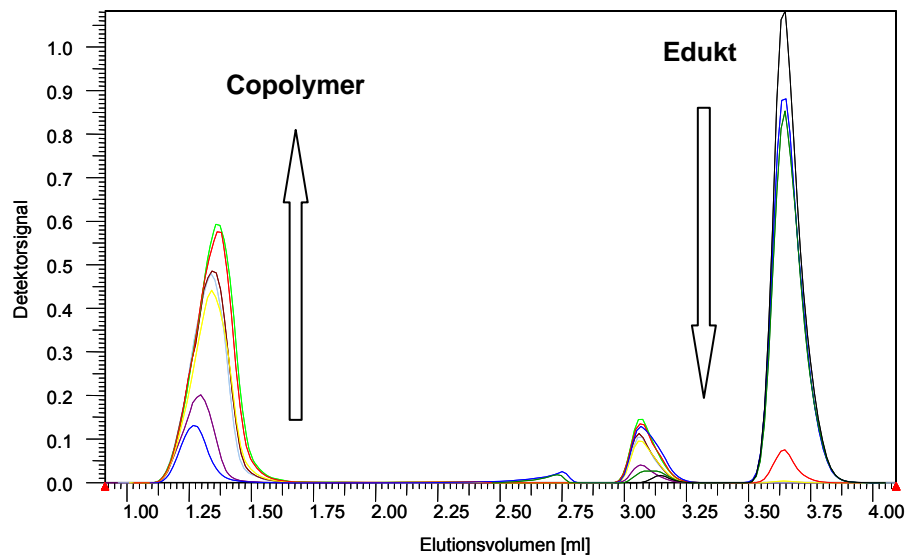


Abb. 22 Überlagerung der LC-CC-Elugramme der Kinetikproben: 0-Probe schwarz, 1-Probe grün, 2-Probe dunkelblau, 3-Probe rot, 4-Probe gelb, 5-Probe hellgrün, 6-Probe braun, 7-Probe hellblau und 8-Probe lila; Säule: M&N NUCLEOSIL 100-5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 1 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser

Die Proben werden alle nach der Entnahme im Eluenten verdünnt und sofort auf die chromatographische Trennsäule injiziert. Ein LC-CC-Experiment beträgt maximal 4 Minuten, so dass jede Probe direkt im Anschluss an die Entnahme untersucht werden kann. Die Abnahme des Eduktanteils bzw. die Zunahme der Copolymer- und Nebenproduktanteile sind in Abb. 22 bereits mit bloßem Auge erkennbar. Die quantitative Auswertung der Peakflächen der Reaktanden liefert den Reaktionsverlauf über die Reaktionsdauer, siehe Abb. 23.

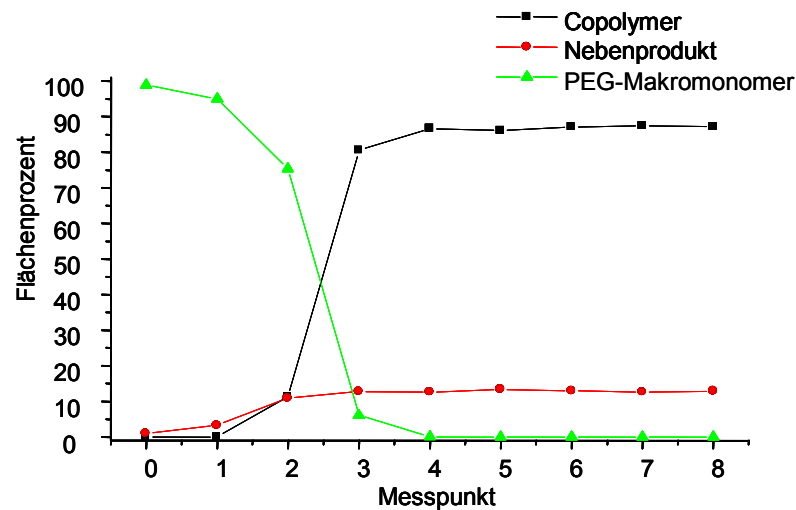


Abb. 23 Darstellung des Reaktionsverlaufs

Abb. 23 zeigt, dass die Reaktion zum Copolymer bereits bei Messpunkt 4, d.h. nach etwa 11 Minuten abgeschlossen ist. Zum gleichen Zeitpunkt stagniert auch die Bildung der Nebenprodukte. Es wird also deutlich, dass die Polymerisation nach 11 Minuten abgeschlossen ist. Demnach könnte möglicherweise der Zeitaufwand der großtechnischen Reaktion reduziert werden. Bei den Messpunkten 5 - 8 ist die Produktzusammensetzung aus Copolymer, Nebenprodukt und Edukt gleich. Auch das Stoppen der Reaktion (Punkt 7) und die Einstellung des pH-Wertes (Punkt 8) bringt keine Veränderung der Nebenproduktanteile mit sich. Derartige Untersuchungen können zur weiteren Optimierung der Reaktionsführung eingesetzt werden, indem Veränderungen in der Dosierungsstrategie zeitnah verfolgt und ausgewertet werden.

3.8 2D-Chromatographie der Copolymere

Die Anwendung einer einzelnen chromatographischen Methode liefert jeweils nur eine Verteilungsfunktion. Mit Hilfe der SEC erhält man die Molekulargewichtsverteilung der PEG-AS-(HPA-)Copolymere. Unter den für die SEC gegebenen chromatographischen Bedingungen können jedoch keine Informationen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung und/oder der Funktionalitätsverteilung erhalten werden. Im Gegensatz dazu

erhält man durch Untersuchung der Copolymere mittels LC-CC Hinweise auf die chemische Zusammensetzung der Produkte. Aus den LC-CC-Elugrammen können aber wiederum keine Informationen zur Molekulargewichtsverteilung erhalten werden. Werden diese beiden chromatographischen Methoden gekoppelt, so können beide Informationen faktisch gleichzeitig erhalten werden: zuerst erfolgt die Auftrennung der Polymerproben mittels LC-CC in den Copolymeranteil und die Nebenprodukte bzw. auch möglicherweise vorliegendes PEG-Makromonomer-Edukt. Durch die Kopplung mit der SEC in der 2. Dimension erhält man zusätzlich die Molekulargewichtsverteilungen der einzelnen Fraktionen.

Die chromatographischen Bedingungen werden im vorliegenden Fall den eindimensionalen Experimenten entnommen:

1. Dimension:

chrom. Trennsäule: M&N NUCLEOSIL 100 – 5 C18 (250 x 4.6 mm)

Temperatur: 35°C

Eluentzusammensetzung: 83,7 Vol.-% MeOH, 16,3 Vol.-% Wasser

2. Dimension:

chrom. Trennsäule: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm)

Temperatur: RT

Eluentzusammensetzung: Wasser mit 20 mmol/l NH₄Ac

Die Kopplung der LC-CC und der SEC erfolgt über zwei Speicherschleifen (Volumen jeweils 100 µl), die über ein elektrisch betriebenes Acht-Port-Schaltventil hin- und hergeschaltet werden. Dadurch ist eine verlustfreie Überführung des Eluats aus der 1. Dimension in die 2. Dimension möglich. Die Flussraten der beiden Dimensionen müssen aufeinander abgestimmt werden. Dazu muss zuerst die Flussratenabhängigkeit der SEC untersucht werden. Das Optimum von Trennleistung und Zeit sowie eine gute Reproduzierbarkeit wird durch systematische Untersuchungen bei einer Flussrate von 5 ml/min gefunden. Bei dieser Flussrate benötigt das SEC-Experiment einer Fraktion etwa 1,3 Minuten. Diese Zeit steht somit zur Befüllung jeweils einer Speicherschleife zur Verfügung. Dementsprechend

muss in der 1. Dimension innerhalb von 1,3 Minuten ein Volumen von 100 μl gefördert werden. Daraus resultiert eine Flussrate von 0,077 ml/min bzw. 77 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Man erhält dann für jede 100 μl -Fraktion der 1. Dimension ein SEC-Elugramm. Mit Hilfe der Software (PSS WIN GPC Unity) werden die Elutionsvolumina aus der 1. Dimension (y-Achse) gegen die Elutionsvolumina aus der 2. Dimension (x-Achse) aufgetragen. Dadurch erhält man einen 2D-Konturplot, wie er in Abb. 24 zu sehen ist. Bei den gegebenen chromatographischen Bedingungen muss man den Konturplot wie folgt lesen:

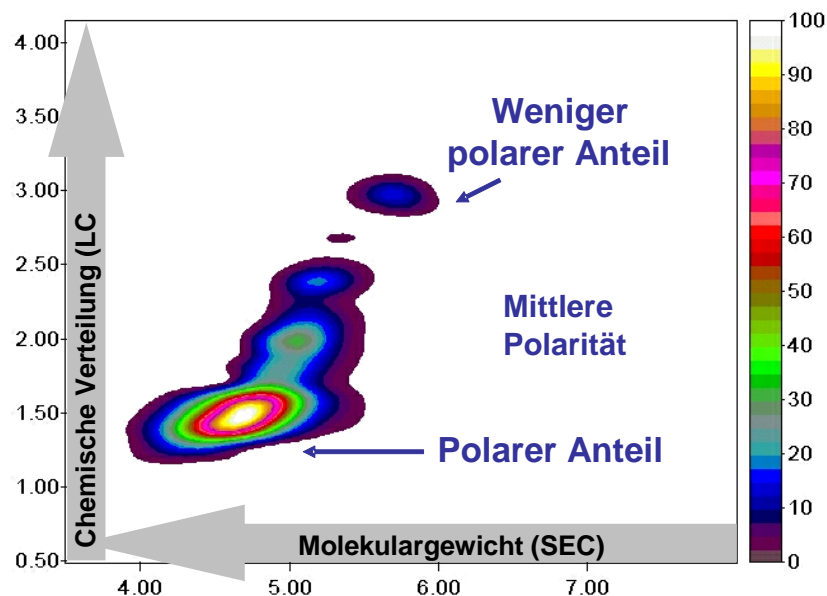


Abb. 24 2D-Konturplot (hier: Probe 16) mit Erklärung der Achsen und Peaks

Polare Bestandteile werden in der 1. Dimension zuerst abgetrennt, gelangen also in die ersten Fraktionen des 2D-Experimentes. Diese enthalten hauptsächlich Copolymeranteile. Da es sich im Falle der PEG-AS-HPA-Copolymere um hochmolekulare Polymere handelt, eluieren diese in der SEC ebenfalls zuerst. Dementsprechend findet man die polaren Copolymere bei niedrigen Elutionsvolumina beider Dimensionen, wie es in Abb. 24 gekennzeichnet ist. Die weniger polaren PEG-Makromonomere bzw. deren Hydrolyseprodukte eluieren in der 1. Dimension im Vergleich zu den Copolymeren später. Es handelt sich bei diesen Bestandteilen um niedermolekulare Polymere, so dass sie auch in der SEC deutlich nach den

Copolymeranteilen eluieren. Daher befinden sich die entsprechenden Peaks bei höheren Elutionsvolumina beider Dimensionen, was ebenfalls in Abb. 24 zu sehen ist.

Nach 2D-chromatographischer Analyse der Probe 16 erhält man den 2D-Konturplot in Abb. 24. Die Probe enthält ein chemisch breit verteiltes Copolymer, das ebenfalls eine breite Molekulargewichtsverteilung aufweist, und weniger polare niedermolekulare Nebenprodukte. Vergleicht man die Ergebnisse aus den einzelnen chromatographischen Methoden mit dem Ergebnis aus der 2D-Chromatographie, so stellt man fest, dass zusätzlich zu den einzelnen Verteilungen (Verteilung nach der chemischen Zusammensetzung in der 1. Dimension und Molekulargewichtsverteilung in der 2. Dimension) und der Quantifizierung des Nebenproduktanteils, mit Hilfe der 2D-Chromatographie eine Korrelation zwischen Chemie und Molekulargewicht erhalten werden kann. Zu jeder chemisch unterschiedlichen Fraktion aus der 1. Dimension kann aus der 2. Dimension ein Hinweis auf das Molekulargewicht dieser jeweiligen Fraktion erhalten werden.

3.8.1 2D-Chromatographie der PEG-AS-Copolymere

Wegen der Informationstiefe der 2D-Experimente soll diese Methode zum Vergleich der vorher bereits diskutierten Proben herangezogen werden. Alle PEG-AS-Copolymere werden im Eluenten der 1. Dimension gelöst (Konzentration 20 mg/ml) und jeweils 50 µl dieser Lösung auf die chromatographische Trennsäule der 1. Dimension injiziert. Die chromatographischen Parameter werden wie oben beschrieben beibehalten. Abb. 25 zeigt die Gegenüberstellung der 2D-Konturplots der verschiedenen PEG-AS-Proben.

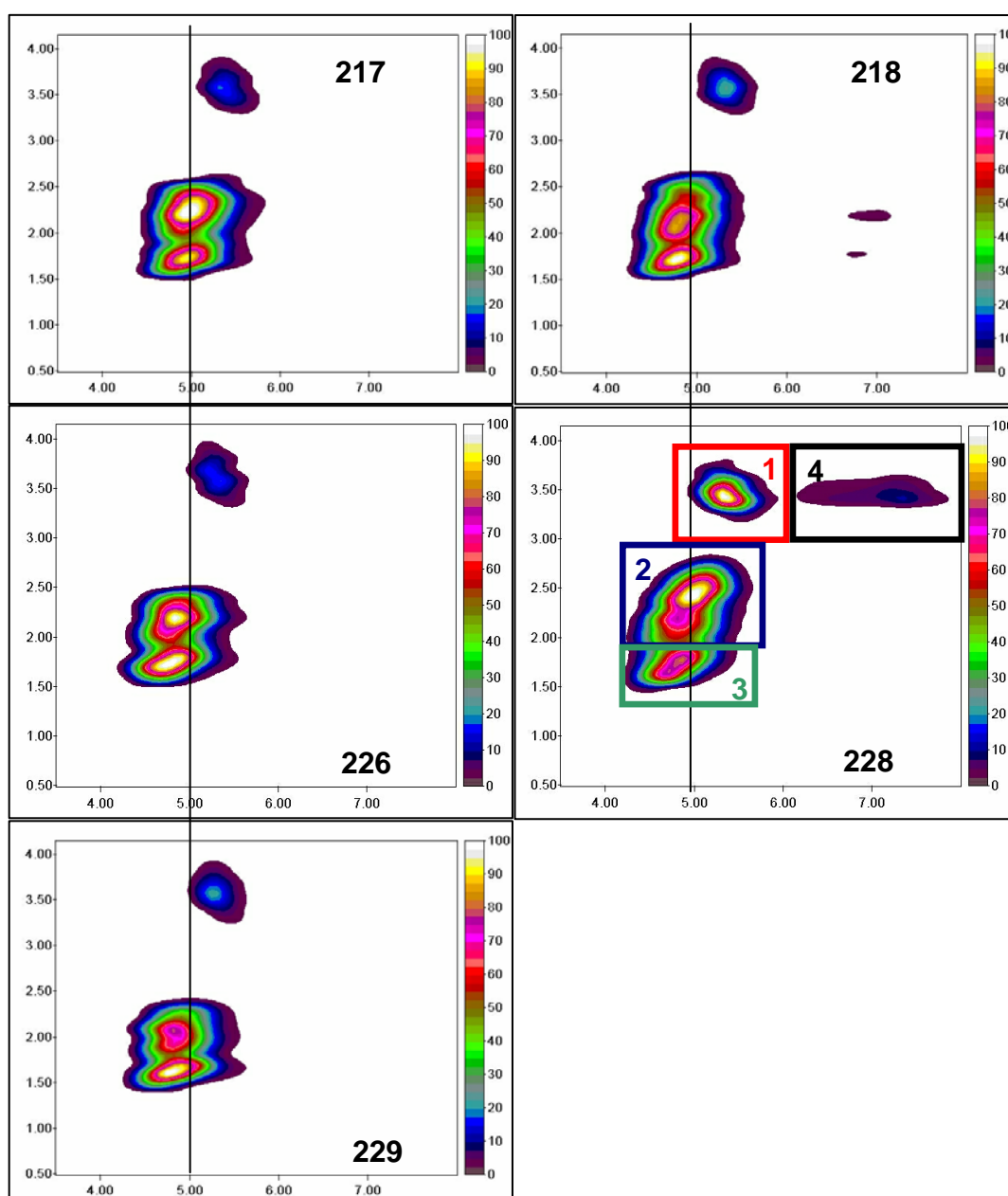


Abb. 25 2D-Konturplots der verschiedenen PEG-AS-Proben, Säule 1. Dim.: M&N NUCLEOSIL 100 – 5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 0,077 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser; Säule 2. Dim.: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm), Flussrate: 5 ml/min, Eluent: Wasser + 20 mmol/l NH_4Ac

Zuerst kann auch hier festgestellt werden, dass in keiner der untersuchten Proben Rest-PEG-Makromonomer enthalten ist. Dieses wäre bei einem Elutionsvolumen von ca. 4,5 ml (1. Dimension) zu erwarten gewesen.

In den 2D-Konturplots aller Proben sind jeweils drei Peaks zu erkennen. Im rot gekennzeichneten ersten Bereich findet man das Hydrolyseprodukt des

PEG-Makromonomers. Das Copolymer eluiert in den Bereichen 2 und 3. Bei allen Copolymeren ist eine bimodale Elution festzustellen. Diese wird durch das AS/PEG-Verhältnis und die Ladungsverteilung in der Copolymerkette hervorgerufen. Auch das verwendete Polymerisationsverfahren könnte eine mögliche Ursache sein. In Tab. 9 a sind die Volumenanteile, in Tab. 9 b die Elutionsvolumina der verschiedenen Bereiche ausgewertet.

Tab. 9 Auswertung der 2D-Konturplots der PEG-AS-Copolymere
a) Volumenanteile

Probe	Peak 1 [Vol.-%]	Peak 2 [Vol.-%]	Peak 3 [Vol.-%]	Peak 4 [Vol.-%]
217	5,93	58,01	30,16	
218	6,69	55,98	30,26	
226	6,24	47,44	37,93	
228	17,46	52,81	24,27	4,38
229	7,86	49,40	34,41	

b) Elutionsvolumina

Probe	Peak 1		Peak 2		Peak 3		Peak 4	
	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]
217	5,28	3,07	4,97	1,91	4,90	1,47	-	-
218	5,25	3,06	4,74	1,77	4,74	1,47	-	-
226	5,32	3,07	4,82	1,88	4,76	1,48	-	-
228	5,30	2,94	4,91	2,08	4,81	1,52	7,30	2,93
229	5,22	3,05	4,78	1,76	4,74	1,36	-	-

Vergleicht man die Werte der Volumenanteile mit den Werten aus Tab. 4 so wird für den Hydrolyseproduktanteil eine gute Übereinstimmung gefunden. Auch durch 2D-Chromatographie wird in Probe 217 ein besonders kleiner und in Probe 228 ein besonders großer Anteil gefunden. Die Lage der Hydrolyseproduktpeaks im Konturdiagramm ist in allen Proben etwa gleich. Aus der entsprechenden PEG-Kalibration errechnet sich ein Molekular-

gewicht von ca. 6.000 g/mol. Dieses stimmt mit dem Molekulargewicht des eingesetzten PEG-Makromonomers (5.800 g/mol) gut überein. Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass die mit den Elutionsvolumina der 2. Dimension korrelierten Molekulargewichte „per Hand“ aus der Kalibrationskurve abgelesen werden. Eine Automatisierung über die Software ist in diesen Experimenten nicht möglich.

Das Copolymer eluiert in allen Proben bimodal. Die Molekulargewichte der beiden Copolymerbereiche sind innerhalb einer Probe vergleichbar, da die Elutionsvolumina der 2. Dimension der beiden Peakmaxima innerhalb eines 2D-Plots beinahe identisch sind. Lediglich in Probe 228 ist ein Unterschied im Elutionsvolumen von Bereich 2 und 3 von 0,1 ml zu sehen, was einem Molekulargewichtsunterschied von etwa 10.000 g/mol entspricht. Für Bereich 2 von Probe 228 errechnet sich ein Molekulargewicht von ca. 40.000 g/mol und für Bereich 3 von ca. 50.000 g/mol.

Beim Vergleich der 5 Proben fällt auf, dass Bereich 2 in Probe 217 beim höchsten Elutionsvolumen gefunden wird (4,97 ml). Demzufolge ist das Molekulargewicht dieses Polymeranteils am niedrigsten (ca. 30.000 g/mol). Das Elutionsvolumen von Bereich 2 von Probe 218 ist am niedrigsten (4,74 ml), was mit dem höchsten Molekulargewicht (ca. 65.000 g/mol) verbunden ist.

In Tab. 9a sind die Volumenanteile der verschiedenen Bereiche aufgeführt. Der Anteil von Bereich 2 ist in allen Copolymeren höher verglichen mit Bereich 3. Die Intensitätsverhältnisse schwanken jedoch. Betrachtet man Copolymerprobe 226 so ist Bereich 2 1,25-mal intensiver als Bereich 3. Im Falle von Copolymer 228 ist der Volumenanteil von Bereich 2 mehr als doppelt (2,18-mal) so groß wie Bereich 3. Worin genau sich Bereich 2 und 3 chemisch unterscheiden, kann aus den 2D-Konturplots nicht direkt abgeleitet werden. In den Copolymeren findet man, wie schon beschrieben, sicher Unterschiede im PEG/AS-Verhältnis, eine Verteilung hinsichtlich der Kettenlänge des PEG-Makromonomers und durch die AS eine Ladungsverteilung in der Polymerkette. Durch das unterschiedliche Elutionsverhalten in der 1. Dimension kann man davon ausgehen, dass Bereich 3 polarer ist als Bereich 2, weil dieser Bestandteil schneller von der chromatographischen Trennsäule eluiert, somit also weniger Wechsel-

wirkungen mit der stationären Phase bestehen. Derartige Unterschiede konnten aus den eindimensionalen LC-CC-Experimenten nicht herausgearbeitet werden. Die chemische Heterogenität ist jedoch neben dem Nebenproduktanteil, einem möglichen PAS-Homopolymeranteil und der Molekulargewichtsverteilung ein eigenschaftsbestimmender Parameter. Daher können aus den 2D-Konturplots der PEG-AS-Copolymere möglicherweise Hinweise auf spätere Anwendungseigenschaften gezogen werden.

In Copolymer 228 ist zudem ein weiterer Bereich 4 zu sehen. Um was genau es sich hierbei handelt, ist unklar. Das Elutionsvolumen der 1. Dimension entspricht dem des Makromonomer-Hydrolyseprodukt. Daher könnte es sich auch um einen chemisch gleichen Bestandteil handeln. Der Versuch ein Molekulargewicht über die entsprechende PEG-Kalibration zu ermitteln scheitert, da das Elutionsvolumen (2.Dimension) des niedermolekularsten PEG-Standards (400 g/mol) bei 5,9 ml, also mehr als 1 ml unterhalb des hier bestimmten Elutionsvolumens liegt. Es handelt sich also entweder um eine niedermolekulare Substanz oder um einen Bestandteil, der Wechselwirkungen mit der stationären Phase der 2. Dimension eingeht.

3.8.2 2D-Chromatographie der PEG-AS-HPA-Copolymere

Durch das weitere Monomer HPA in den entsprechenden PEG-AS-HPA-Copolymeren waren die LC-CC-Elugramme dieser Proben im Vergleich zu den binären Copolymeren komplexer. Die Polarität des Copolymers nimmt durch das zusätzliche Monomer zu. Die Molekulargewichtsverteilung wies im Gegensatz zu den PEG-AS-Copolymerproben einen niedermolekularen Anteil auf, welcher durch das eingesetzte PEG-Makromonomer (Molekulargewicht 1100 g/mol) aufgetreten ist. Die 2D-Chromatographie dieser Proben soll weitere Aufschlüsse hinsichtlich der chemischen Heterogenität, der Polarität und der Molekulargewichtsverteilung geben. Außerdem sollen die Formen der Konturplots mit denen der PEG-AS-Copolymere verglichen werden. Die 2D-Konturplots der PEG-AS-HPA-Copolymere sind in Abb. 26 zu sehen.

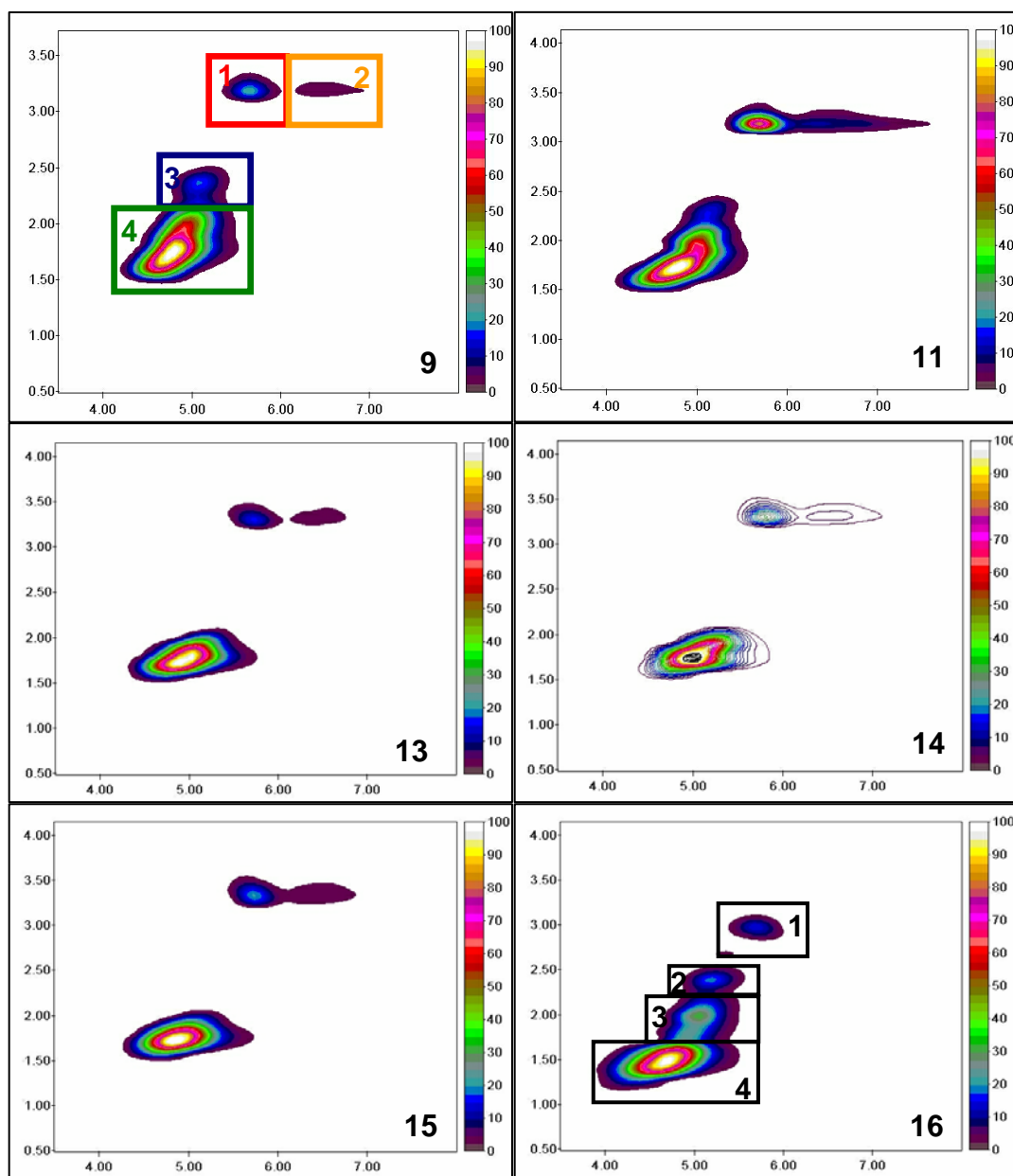


Abb. 26 2D-Konturplots der verschiedenen PEG-AS-HPA-Proben, Säule 1. Dim.: M&N NUCLEOSIL 100 – 5 C18 (250 x 4.6 mm), Flussrate: 0,077 ml/min, Eluent: 83,7 Vol-% MeOH : 16,3 Vol-% Wasser; Säule 2. Dim.: PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm), Flussrate: 5 ml/min, Eluent: Wasser + 20 mmol/l NH_4Ac

In Abb. 26 sind die Konturplots der PEG-AS-HPA-Copolymer-Proben zusammengestellt. Im Konturplot der Probe 9 sind die einzelnen Bereiche farbig gekennzeichnet. Die Proben 9 – 15 werden nach diesem Schema ausgewertet, und die Ergebnisse sind Tab. 10a und b zu entnehmen.

Die Proben weisen alle neben dem Hydrolyseprodukt einen weiteren Peak bei gleichem Elutionsvolumen in der 1. Dimension auf. Dieser ist, wie schon bei PEG-AS-Probe 228 beschrieben, mit einer PEG-Kalibration nicht auszuwerten. Es handelt sich entweder um ein niedermolekulares Produkt oder um einen Bestandteil, der an die stationäre Phase der 2. Dimension adsorbiert.

Die Copolymerproben 9 und 11 zeigen, ähnlich wie die PEG-AS-Copolymere, eine bimodale Verteilung des Copolymerbereichs, während man in den Proben 13 – 15 nur einen homogenen Copolymerpeak erhält. Probe 16 weist ein in dieser Serie einzigartiges Elutionsverhalten auf und wird wie gekennzeichnet ausgewertet. Die Volumenanteile und Peaklagen der einzelnen Bereiche in den PEG-AS-HPA-Proben sind Tab. 10 a und b zu entnehmen.

Tab. 10 **Auswertung der 2D-Konturplots der PEG-AS-HPA-Copolymere**
a) Volumenanteile

Probe	Peak 1 [Vol.-%]	Peak 2 [Vol.-%]	Peak 3 [Vol.-%]	Peak 4 [Vol.-%]
9	4,87	2,72	5,59	81,55
11	16,41	5,67	3,38	72,70
13	5,33	3,26	-	86,73
14	9,22	4,99	-	81,89
15	8,45	4,94	-	82,32
16	3,84	5,61	15,23	73,26

b) Elutionsvolumina

Probe	Peak 1		Peak 2		Peak 3		Peak 4	
	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]	X [ml]	Y [ml]
	Vol.-%		Vol.-%		Vol.-%		Vol.-%	
9	5,65	2,74	6,47	2,74	5,07	2,04	4,74	1,49
11	5,65	2,74	6,32	2,74	5,06	1,95	4,81	1,52
13	5,72	2,85	6,47	2,85	-	-	4,91	1,52
14	5,79	2,83	6,40	2,83	-	-	4,96	1,52
15	5,73	2,85	6,41	2,85	-	-	4,81	1,50
16	5,65	2,72	5,14	2,22	4,99	1,87	4,64	1,44

Wie in den PEG-AS-Proben ist auch in den 2D-Konturplots der ternären Proben kein Restgehalt an PEG-Makromonomer festzustellen.

In allen 2D-Konturplots ist jeweils der 1. Peak bei einem Elutionsvolumen von ca. 5,7 ml (Tab. 10 b) in der 1. Dimension zu finden. Das entspricht einem Molekulargewicht von ca. 1.100 g/mol (PEG-Kalibration) und bestätigt so, dass es sich um das Hydrolyseprodukt des PEG-Makromonomers handelt. Die Anteile (Tab. 10 a) variieren, wie aus den einfachen LC-CC-Untersuchungen (Abschnitt 3.5.2) erwartet. Fasst man die Volumenanteile von Bereich 1 und 2 zusammen und vergleicht sie mit den Anteilen zum Hydrolyseprodukt aus der LC-CC (Tab. 7), so findet man eine gute Übereinstimmung. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass ein Teil des Hydrolyseproduktes Wechselwirkungen mit der stationären Phase der 2. Dimension eingeht und somit später von der SEC-Säule eluiert. Eine genaue Erklärung des Phänomens ist mit den hier gezeigten Ergebnissen alleine nicht möglich.

Der Copolymerbereich ist in den Proben 9 und 11 bimodal. In beiden Proben ist die Signalintensität von Bereich 4 höher als die von Bereich 3. Die Peaklagen in der 2. Dimension sind ähnlich. Bereich 3 wird bei einem Elutionsvolumen von 5,0 ml in der 2. Dimension gefunden, was einem Molekulargewicht von 28.000 g/mol entspricht. Für Bereich 4 wird mittels PEG-Kalibration ein Molekulargewicht von ca. 31.000 g/mol ermittelt. Die Molekulargewichts-verteilung des Copolymeren 11 ist jedoch etwas breiter

(4,1 – 5,5 ml entspricht 1,4 ml) im Vergleich zu Copolymer 9 (4,3 – 5,5 ml entspricht 1,2 ml).

Die Copolymere in den Proben 13, 14 und 15 sind chemisch einheitlich und zeigen daher ein monomodales homogenes Elutionsverhalten. Die in Tab. 10 b gezeigten Elutionsvolumina (2. Dimension) liegen zwischen 4,81 ml (Probe 15), was einem Molekulargewicht von ca. 50.000 g/mol entspricht, und 4,96 ml (Probe 14), was einem Molekulargewicht von ca. 31.000 g/mol entspricht.

Probe 16 unterscheidet sich deutlich von den anderen Copolymerproben. Es weist zum einen nur einen Peak für das Hydrolyseprodukt des Makromonomeren auf. Außerdem ist eine breitere chemische Verteilung zu beobachten. Der Anteil von Bereich 4, der im Elutionsvolumen der 1. Dimension den Copolymerbereichen der anderen Proben entspricht, ist am größten. Aus der PEG-Kalibration errechnet sich für diese Copolymerfraktion ein Molekulargewicht von ca. 85.000 g/mol. Weiterhin sind in dieser Probe noch Copolymerfraktionen mit abnehmender Polarität zu finden. Das Molekulargewicht der Bereiche 3 (ca. 30.000 g/mol) und 2 (ca. 16.000 g/mol) nimmt ab. Die Breite der chemischen Verteilung und auch der Molekulargewichtsverteilung sind möglicherweise dadurch zu erklären, dass die Monomerlösung (AS) in dieser Reaktion über eine Stunde linear zudosiert wird, und so zum Ende der Reaktionszeit nur noch wenig Makromonomer zur Copolymerisation zur Verfügung steht.

Die 2D-Konturplots der 6 PEG-AS-HPA-Proben sind sehr unterschiedlich. Ob man daraus Hinweise auf die Anwendungseigenschaften der verschiedenen Proben erhalten kann, bleibt zu überprüfen. Dazu werden alle Proben dem typischen Anwendungstest, dem Betontest unterzogen.

Die Seiten 58 – 62 werden nicht veröffentlicht

Die Seiten 58 – 62 werden nicht veröffentlicht

Die Seiten 58 – 62 werden nicht veröffentlicht

Die Seiten 58 – 62 werden nicht veröffentlicht

4. Analytik von PEG-g-PVAc- und PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymeren

Hydrophile Copolymere werden u.a. als Tablettencoatings oder im Bereich der Körperpflege eingesetzt.⁸⁴ Typische Vertreter sind Copolymere auf der Basis von PEG und Polyvinylalkohol (PVOH). Derartige Copolymere erhält man durch Pfropfung von Vinylacetat (VAc) auf PEG. Die dabei entstehenden PEG-g-PVAc-Pfropfcopolymere werden zu den gewünschten PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymeren verseift.

Pfropfreaktionen verlaufen niemals vollständig. Neben den gewünschten Pfropfcopolymeren enthalten die Reaktionsprodukte nicht gepfropften Backbone sowie das Homopolymer des Pfropfmonomers.

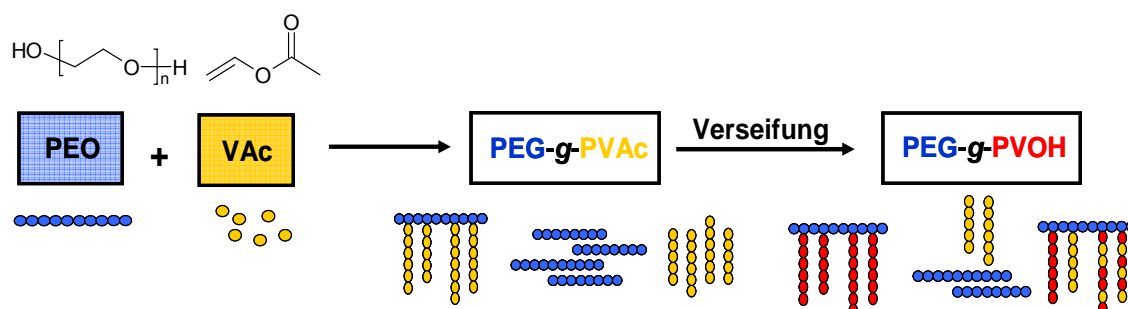
Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigen sich mit der Entwicklung von Methoden zur umfassenden Analytik der PEG-g-PVAc-Pfropfcopolymere und deren Verseifungsprodukten. PEG-g-PVAc-Copolymere sind nicht wasserlöslich und werden dementsprechend mit organischen Eluenten chromatographisch untersucht. Demgegenüber lösen sich die PEG-g-PVOH-Copolymere nur in wässrigen Eluenten. Für beide Polymerklassen müssen also unterschiedliche chromatographische Systeme entwickelt werden.

Zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilungen wird die SEC eingesetzt. Diese erfolgt für die PEG-g-PVAc-Copolymere in THF, während für die PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere Wasser als mobile Phase genutzt wird. Die Bestimmung der chemischen Zusammensetzung erfolgt durch Wechselwirkungschromatographie. So soll zur Auftrennung der Copolymere und der Homopolymere die LC-CC durchgeführt werden. Zur Bestimmung des Zusammenhangs zwischen chemischer Zusammensetzung und Molekulargewichtsverteilung werden Methoden der 2D-Chromatographie entwickelt. In der 1. Dimension erfolgt dabei die Trennung in die unterschiedlichen Komponenten der Pfropfreaktion, während die SEC in der 2. Dimension Molekulargewichtsinformationen liefert.

4.1 Proben

Die Synthese der Pfropfcopolymere erfolgte durch Aufpfropfen von Vinylacetat (VAc) auf Polyethylenglycol (PEG). Diese Pfropfreaktion verläuft radikalisch. Der thermisch zersetzte Initiator startet die Polymerisationsreaktion von VAc. Es folgt eine Kettenübertragungsreaktion von der wachsenden PVAc-Kette auf das PEG und es wird ein PEG-Radikal erzeugt, das wiederum die PVAc-Polymerisation an das PEG-Rückgrat initiiert. Eine PEG-Kette kann in mehrere Kettenübertragungsschritte involviert werden, so dass viele PVAc-Seitenketten an einem PEG-Backbone entstehen können^{82,83}.

In der darauf folgenden polymeranalogen Umsetzung erhält man durch Verseifen der Pfropfprodukte mit Methanol die entsprechenden PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere. Die Polymerisationsreaktion verläuft nach Schema 1.



Schema 1 **Synthese der Pfropfcopolymere PEG-g-PVAc und PEG-g-PVOH**

Bei der Polymerisationsreaktion bzw. deren Folgereaktionen entstehen neben dem gewünschten Pfropfcopolymer auch eine Vielzahl von Neben- bzw. „Mischprodukten“.⁸⁵ Wenn die Übertragung des Radikal-Elektrons auf das PEG nicht erfolgt, erhält man ungepfropftes PEG und PVAc. Daneben weisen die entstehenden Pfropfcopolymere unterschiedliche chemische Zusammensetzungen und Molekulargewichtsverteilungen auf. Bei der polymeranalogen Umsetzung im Anschluss an die Pfropfreaktion entstehen dann auch PVOH oder teilweise verseifte „PVAc-PVOH-Mischprodukte“. Außerdem sind solche „Mischprodukte“ auch bei allen (chemisch unterschiedlich verteilten) Pfropfcopolymeren zu erwarten.

Diese komplexen Polymerproben gilt es, durch chromatographische Methoden möglichst gut aufzutrennen, um eventuelle Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung oder den Homopolymeranteilen zu finden.

Die im Labor hergestellten Polymere werden wie folgt bezeichnet:

Tab. 12 Probenbezeichnungen der PEG-g-PVAc-Pfropfcopolymere

Probe	Molekulargewicht PEG [g/mol]	PEG- Anteil [Gew.- %]	VAc- Anteil [Gew.- %]	PEG- Anteil [mol.-%]	VAc- Anteil [mol.-%]
1,5k15u	1.500	15	85	1	99
1,5k50u	1.500	50	50	5,4	94,6
1,5k85u	1.500	85	15	24,5	75,5
6k15u	6.000	15	85	0,25	99,75
6k50u	6.000	50	50	1,42	98,58
6k85u	6.000	85	15	7,52	92,48
12k15u	12.000	15	85	0,13	99,87
12k50u	12.000	50	50	0,71	99,29
12k85u	12.000	85	15	3,91	96,09

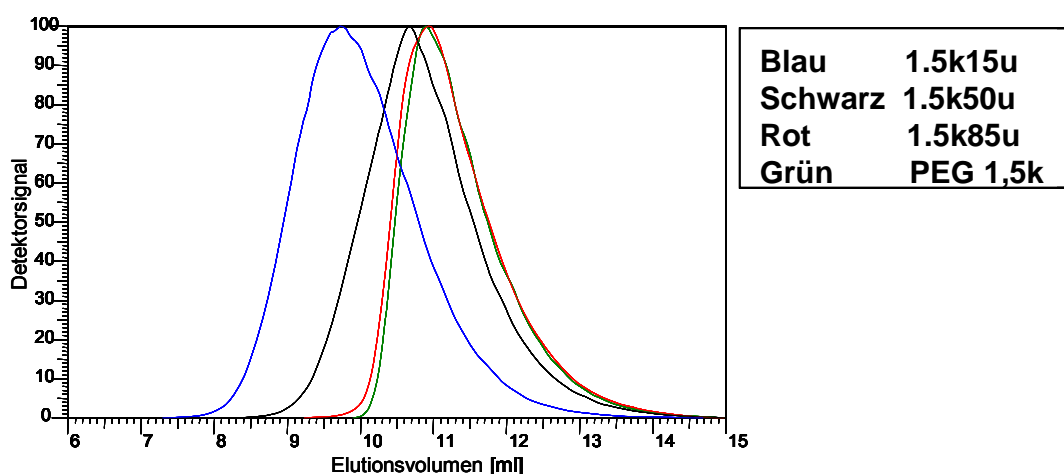
Die Probencodierung beschreibt das Molekulargewicht des PEG und die Zusammensetzung der Reaktanden. Die erste Zahl gibt das Molekulargewicht des eingesetzten PEGs an. Die zweite Zahl beschreibt den Gewichtsanteil dieses PEGs und „u“ steht für „unverseift“, woraus eindeutig hervorgeht, dass es sich um die Precursor-Polymere PEG-g-PVAc handelt. Die Abkürzungen für die jeweiligen verseiften Polymere PEG-g-PVOH enthalten anstelle des „u“ ein „s“ (für „saponified“).

4.2 Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte mittels SEC

Für die chromatographischen Trennungen nach der Molekülgröße wird ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer (SDV) als stationäre Phase eingesetzt. Es wird im Hinblick auf spätere 2D-chromatographische Experimente eine High-

Speed-Säule (50 x 20 mm, Partikel 5 μm und Porosität 10^4 Å) ausgewählt. Durch die Dimensionen dieser Trennsäule liefert sie bei einem chromatographischen Experiment im Vergleich zu den entsprechenden analytischen Säulen (300 x 8 mm) einen geringeren Gegendruck und ermöglicht damit, dass auch Experimente mit höheren Flussraten (bis zu 10 ml/min) möglich sind. Diese Tatsache ist besonders wertvoll im Hinblick auf spätere 2D-Experimente, bei denen durch schnellere Flussraten kürzere Gesamtanalysenzeiten erreicht werden⁸⁶.

Die PEG-g-PVAc-Copolymere sind in THF gut löslich. Deshalb wird destilliertes THF als Eluent und Lösungsmittel eingesetzt. Die Flussrate der SEC-Experimente beträgt 3 ml/min. Die SEC-Elugramme, die mit diesen chromatographischen Parametern erhalten werden, sind in Abb. 27 in Form von Überlagerungen dargestellt.



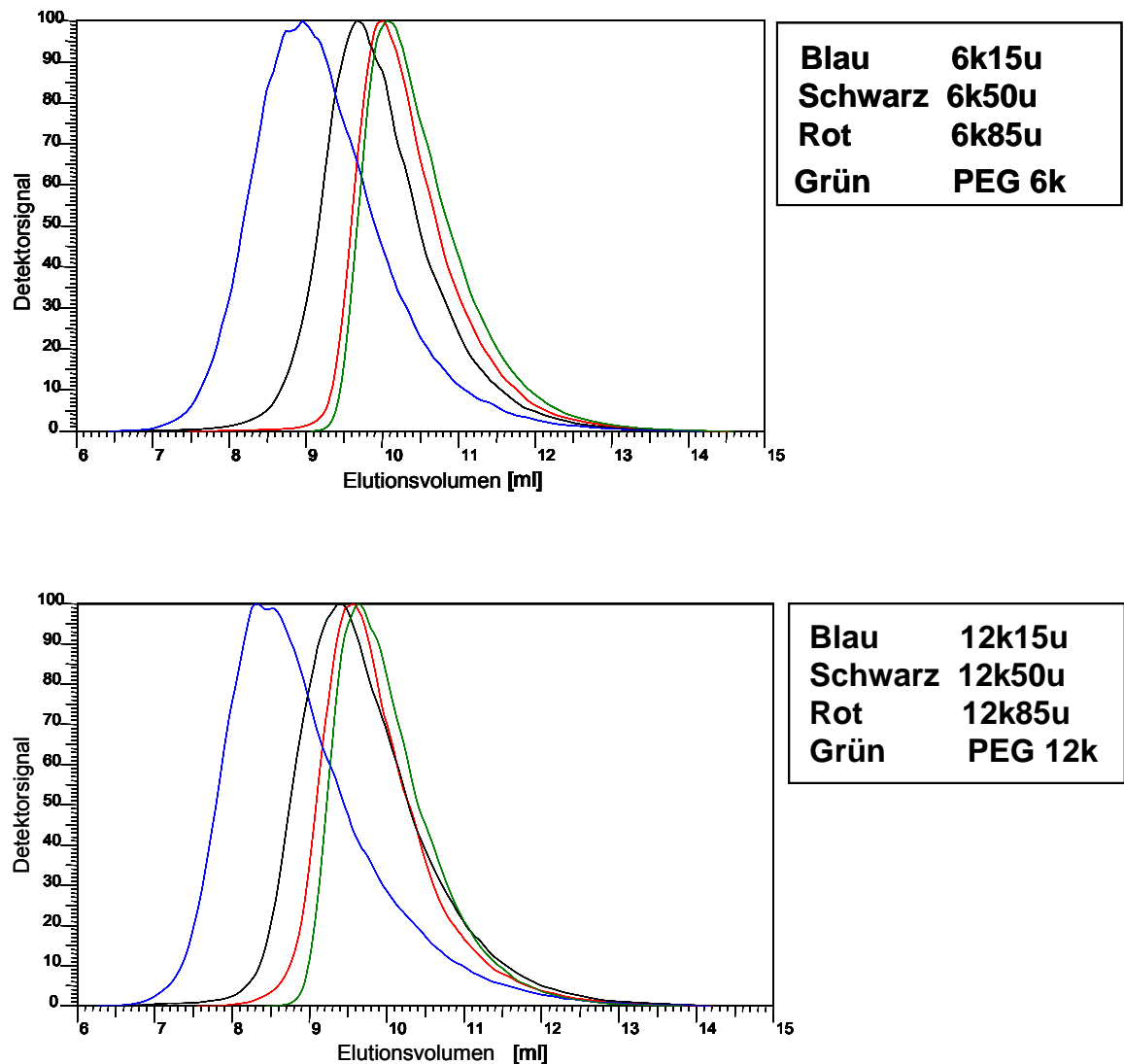


Abb. 27 Überlagerungen der SEC-Elugramme der PEG-g-PVAc-Copolymere

Wie man in Abb. 27 sehen kann, nimmt das Elutionsvolumen von Probe 12k85u nach 12k15u ab, was einem Zuwachs des Molekulargewichts der Pfropfprodukte mit steigendem VAc-Anteil entspricht. Die Proben mit dem höchsten PEG-Anteil (85 Gew.-%) unterscheiden sich in ihrem Elutionsverhalten nur wenig vom eingesetzten PEG.

Die Molekulargewichtsmittelwerte werden mit Hilfe einer PVAc-Kalibrierung erhalten. Die Werte für alle Copolymere sind in Tab. 13 aufgeführt.

Tab. 13 Molekulargewichte der Pfropfprodukte, ermittelt durch SEC

Probe	M_w [g/mol]	M_n [g/mol]	M_w/M_n
1,5k15u	18 400	5 400	3,4
1,5k50u	6 300	1 700	3,7
1,5k85u	3 200	1 200	2,6
6k15u	40 800	11 700	3,5
6k50u	17 800	6 100	2,9
6k85u	10 300	4 300	2,4
12k15u	54 600	12 700	4,2
12k50u	24 200	5 800	4,2
12k85u	18 800	7 000	2,7

Bei Betrachtung von Tab. 13 fällt auf, dass der Molekulargewichtszuwachs am größten ist, wenn der Gewichtsanteil an VAc, welches in der Pfropfreaktion eingesetzt wird, am größten ist. Somit nimmt der Gewichtszuwachs von Probe 1,5k85u, über 1,5k50u zu 1,5k15u zu. Dieses Verhalten wird auch bei den Proben aus PEG 6k und PEG 12k gefunden.

Vergleicht man die Proben mit gleichem VAc-Anteil (d.h. 1,5k15u, 6k15u und 12k15u), so fällt auf, dass mit länger werdendem PEG-Backbone der Gewichtszuwachs größer wird. Bei Probe 1,5k15u erhält man einen Gewichtszuwachs von ~ 17.000 g/mol, bei Probe 6k15u einen Zuwachs von ~ 35.000 g/mol und bei Probe 12k15u nimmt das Gewicht bezogen auf das eingesetzte PEG um ~ 42.000 g/mol zu. Bestimmt man den prozentualen Zuwachs des Molekulargewichts bezogen auf das eingesetzte PEG, dann stellt man fest, dass im Falle von Probe 1,5k15u ein Zuwachs um das 11,3-fache erreicht wird, während der Gewichtszuwachs für Probe 6k15u nur noch als das 5,8-fache und bei Probe 12k15u als das 3,5-fache des Ausgangsgewichts (PEG) bestimmt wird. Unter der Annahme, dass bei allen Reaktionen die gleiche Aktivität von VAc vorliegt entstehen bei allen Pfropfreaktionen Seitenketten der gleichen Länge. Aus dem jeweiligen Gewichtszuwachs kann man schließen, dass bezogen auf das Molekulargewicht des eingesetzten PEG in Probe 1,5k15u mehr Ketten pro Molekül vorliegen. Daher ist das entstehende Molekül stärker verzweigt und

verhält sich möglicherweise in der Chromatographie sternartig. Das Elutionsverhalten der Probe wird also stärker von den PVAc-Seitenketten beeinflusst. Demgegenüber ist die Anzahl an Seitenketten pro Molekül in Probe 12k15u geringer. Es handelt sich also eher um ein weniger verzweigtes, lineares Molekül, dessen Elutionsverhalten stärker durch den PEG-Backbone beeinflusst wird.

Die Polydispersitäten der Proben liegen zwischen 2,4 (6k85u) und 4,2 (12k15u und 12k50u). Die eingesetzten PEGs weisen unter diesen chromatographischen Bedingungen ebenfalls Polydispersitäten dieser Größenordnung auf (PEG 1,5k: 3,1; PEG 6k: 2,5 und PEG 12k: 2,2). Einen deutlichen Anstieg der Polydispersität im Vergleich zum Edukt zeigen die Proben 6k15u, 12k15u und 12k50u. Hier ist der molekulare Anteil (siehe Tab. 12) an VAc in der Pfropfreaktion am höchsten. Die breitere Verteilung lässt auf eine Zunahme der Pfropfstellen und damit eine Zunahme in der Kettenlängenverteilung der PVAc-Seitenketten schließen.

4.3 Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte mittels LC-CC (PVAc)

Im nächsten Schritt sollen die Produkte der Pfropfreaktion bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung analysiert werden. Dabei soll festgestellt werden, wie vollständig die Pfropfreaktion erfolgt ist. Dementsprechend muss ermittelt werden, wie viel nicht gepfropftes PEG und PVAc neben den eigentlichen Pfropfcopolymeren in der Reaktionsmischung vorliegt.

Mit Hilfe der LC-CC ist es möglich, Pfropfcopolymere bezüglich des Rückrats (PEG) oder der Pfropfäste (PVAc) aufzutrennen. Dies geschieht, in dem jeweils am kritischen Punkt von PVAc oder PEG gearbeitet wird.

Zum einen könnte man die Polymere mittels LC-CC am kritischen Punkt von PEG untersuchen. Dabei könnte das Copolymer von nicht gepfropften PEG abgetrennt werden und das möglicherweise vorhandene Homopolymer PEG quantifiziert werden. Im Falle der PEG-g-PVAc-Proben ist diese Untersuchung jedoch nicht möglich, weil die Pfropfprodukte nicht im erforderlichen Eluenten (eine Mischung aus MeOH und Wasser) löslich sind. Die später beschriebenen PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere werden unter den

kritischen Bedingungen von PEG analysiert und liefern die entsprechenden Anteile an PEG. Die zweite Möglichkeit ist, das Copolymer am kritischen Punkt der Adsorption von PVAc zu untersuchen. Hier kann das Pfropfprodukt vom möglicherweise entstehenden Homopolymer PVAc abgetrennt werden. Da sich die PEG-g-PVAc-Copolymere ausschließlich in organischen Lösungsmitteln lösen, werden diese Pfropfprodukte unter den chromatographischen Bedingungen des kritischen Punktes für PVAc untersucht. Es gibt an dieser Stelle zwei Möglichkeiten für die Wahl der stationären Phase: eine polare SiO_2 -Phase (NP) oder eine unpolare, chemisch modifizierte Form (RP). Um sicher zu stellen, dass PEG im SEC-Modus eluiert, wird eine unpolare Phase gewählt, so dass beim Arbeiten in einem guten Lösungsmittel/Eluenten keine Wechselwirkungen der PEG-Backbone-Moleküle mit der stationären Phase auftreten. Als Lösungsmittelgemisch wird THF als gutes Lösungsmittel für die Copolymere und Wasser als schlechtes Lösungsmittel gewählt. Über die Elutionsvolumina von PVAc-Standards bei unterschiedlichen Eluentzusammensetzungen und Temperaturen können die exakten chromatographischen Bedingungen des kritischen Punktes von PVAc bestimmt werden:

Trennsäule: M&N Nucleodur C18 Pyramid 5 μ (250 x 4,6 mm I.D.)

Eluentzusammensetzung: THF : Wasser 71,8 : 28,2 Vol.-%

Säulentemperatur: 35°C

Bei genau diesen chromatographischen Bedingungen eluieren alle PVAc-Standards unabhängig von ihrem Molekulargewicht bei genau einem Elutionsvolumen, was durch Abb. 28 bestätigt wird.

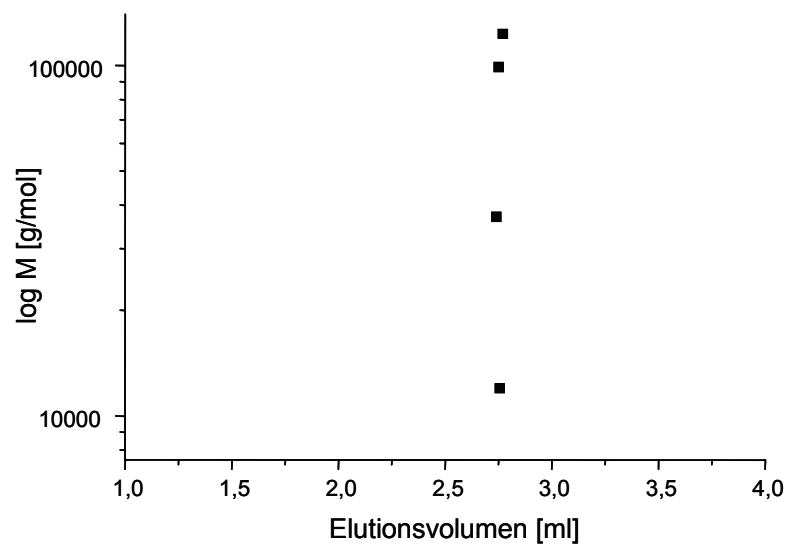
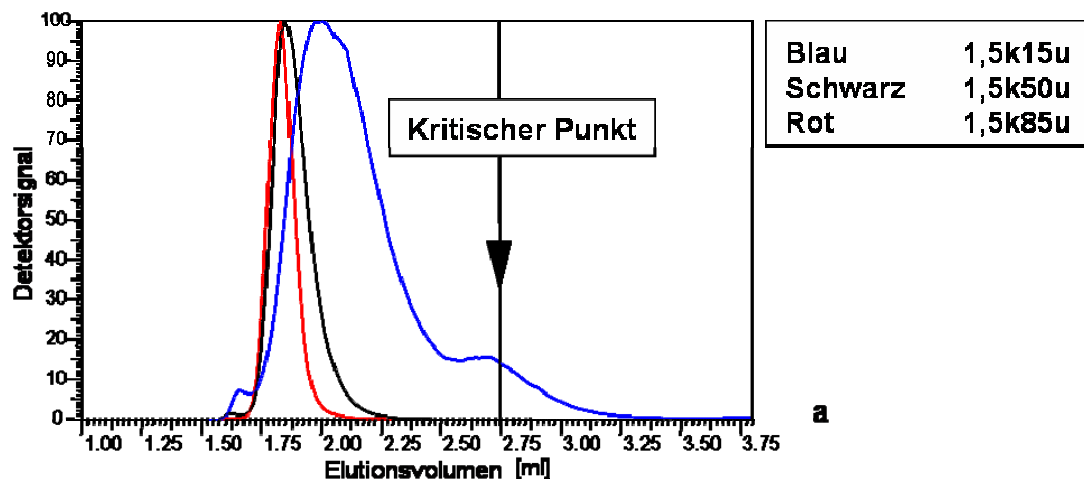


Abb. 28 Diagramm zur Darstellung der kritischen Bedingungen von PVAc

Nach Einstellen der exakten chromatographischen Bedingungen für den kritischen Punkt der Adsorption von PVAc werden alle PEG-g-PVAc-Proben unter diesen Bedingungen untersucht. Die LC-CC-Elugramme sind in Abb. 29 zu sehen.



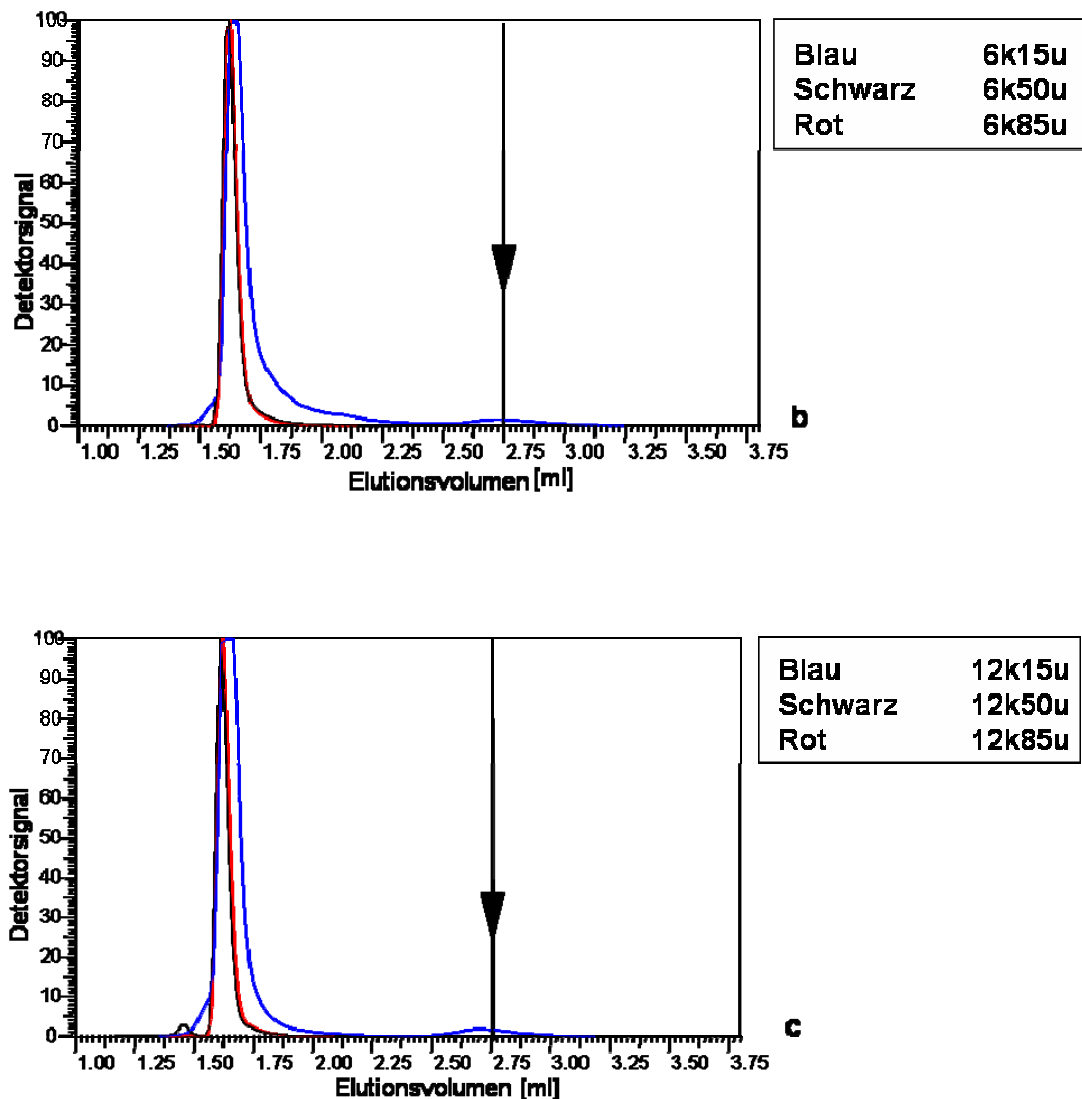
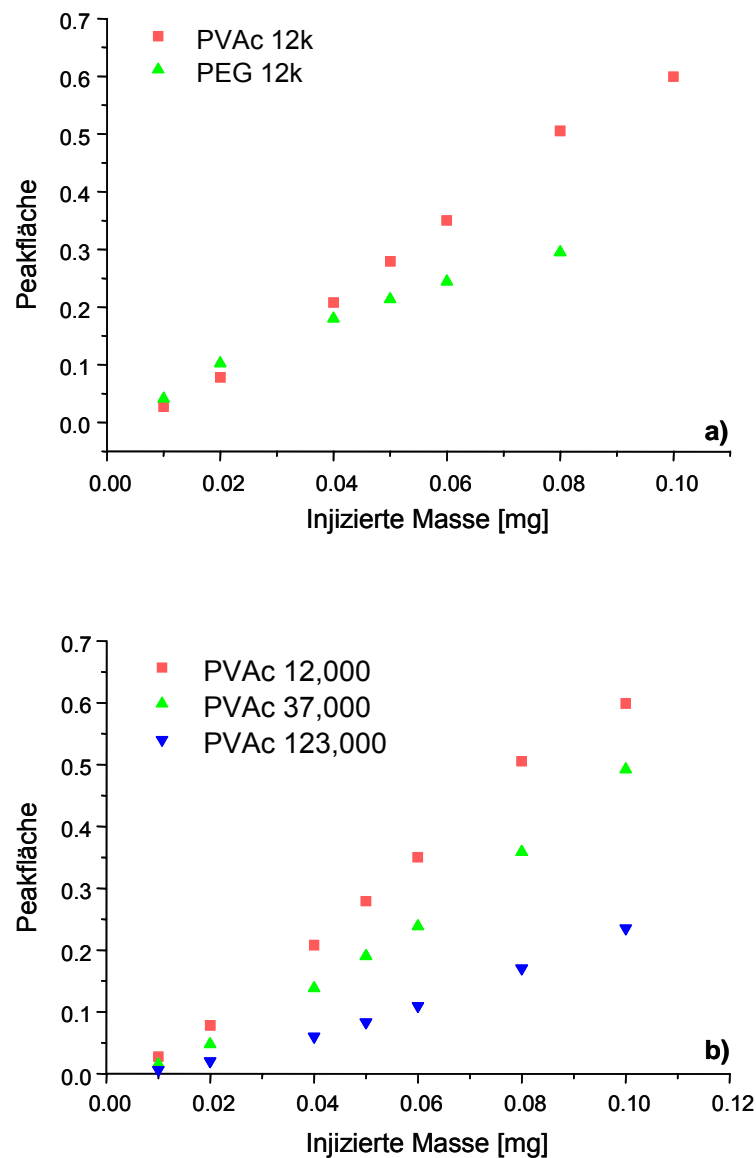


Abb. 29 LC-CC-Elugramme der PEG-*g*-PVAc-Proben, Säule: M&N NUCLEODUR PYRAMID, Eluent: THF : Wasser 71,8 : 28,2 Vol-%, Detektor: PL ELS 2100, Flussrate: 1 mL/min

Die Elugramme in Abb. 29 zeigen deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Copolymerproben. Die Probenreihe mit PEG 1,5k als Ausgangsprodukt (a) liefert breite Copolymerpeaks, während die Proben aus PEG 6k (b) und PEG 12k (c) in schmalen einheitlichen Peaks eluieren. Dies ist ein erster Hinweis auf die chemische Heterogenität der Copolymere. Allerdings muss an dieser Stelle berücksichtigt werden, dass unter den beschriebenen chromatographischen Bedingungen nur PVAc vom Copolymer abgetrennt werden kann, PEG aber mit den Copolymeren coeluiert. Dementsprechend stellt der Elutionspeak bei ca. 1,5 ml ggf. eine

Mischung aus Copolymer und nicht gefropftem PEG dar. Bei einem Elutionsvolumen von ca. 3 ml eluieren alle PVAc-Homopolymere unabhängig vom jeweiligen Molekulargewicht. Abb. 29 zeigt, dass nur die drei Polymerproben mit dem geringsten PEG-Anteil, also 1,5k15u, 6k15u und 12k15u, nicht-gefropftes PVAc enthalten.

Um diesen Anteil an PVAc quantifizieren zu können, ist eine Detektorkalibration durchzuführen. Wie bei der Quantifizierung der Nebenprodukte in den PEG-Makromonomeren im vorherigen Kapitel bereits erwähnt, ist das Signal, das durch den ELSD erhalten wird, abhängig vom Typ des Polymeren, dem Molekulargewicht, der Eluentzusammensetzung und der Flussrate des Eluenten. Dies ist in Abb. 30 anschaulich dargestellt.



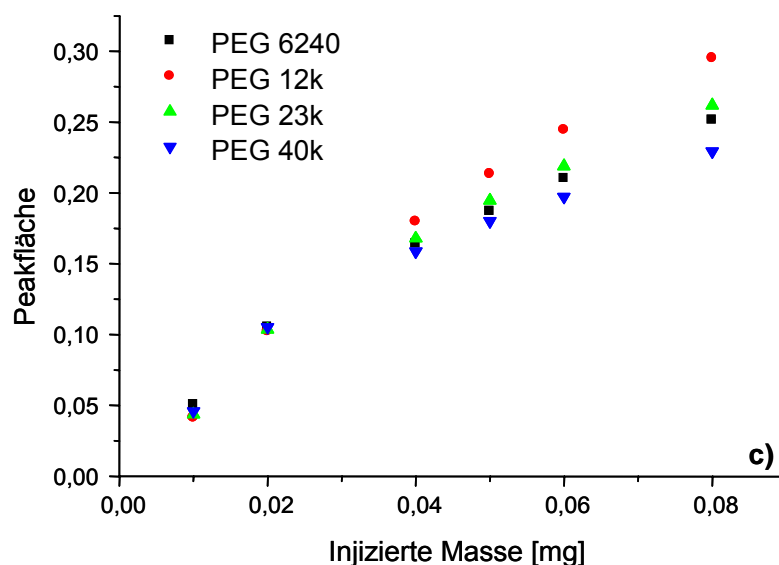


Abb. 30 ELSD-Kalibrationen für PEG und PVAc bei vergleichbaren Molekulargewichten (a), für PVAc-Homopolymere mit unterschiedlichen Molekulargewichten (b) und für PEG-Homopolymere mit unterschiedlichen Molekulargewichten (c)

Wie man in Abb. 30 a) sieht, unterscheiden sich die Peakflächen von PEG und PVAc bei gleicher Konzentration deutlich. Während die Differenz bei niedrigen injizierten Massen geringer ist, steigt der Unterschied bei größeren injizierten Mengen. Diese Tatsache muss bei allen chromatographischen Experimenten beachtet werden.

Außerdem ist die Signalintensität stark abhängig vom Molekulargewicht des jeweiligen Polymers (Abb. 30 b) und c)). Mit steigendem Molekulargewicht sinkt der Responsefaktor. Diese Abhängigkeit ist für die Quantifizierung von PVAc aus LC-CC-Messungen problematisch, da das Molekulargewicht des PVAc erst einmal nicht bekannt ist. Daher kann eine geeignete Kalibration möglicherweise nicht immer gefunden werden. In Tab. 14 sind die in den Proben bestimmten PVAc-Konzentrationen, die durch eine Kalibration mit PVAc 12k ermittelt wurden, zusammengestellt.

Tab. 14 Anteile an PVAc in den Pfropfprodukten (ermittelt durch LC-CC)

Probe	PVAc Peakfläche [absolut]	PVAc [mg]	PVAc [Gew.-%]
1,5k15u	$3,05 \times 10^{-2}$	0,0084	10,5
6k15u	$1,26 \times 10^{-2}$	0,0063	7,8
12k15u	$1,92 \times 10^{-2}$	0,0070	8,8

Die Werte für die Gewichtsanteile von PVAc (bezogen auf die injizierte Masse der Gesamtprobe) sind nur Anhaltspunkte, da nicht vorausgesetzt werden kann, dass in allen drei Proben PVAc mit dem gleichen Molekulargewicht entsteht. In den Proben 1,5k50u, 1,5k85u, 12k50u und 12k85u wird kein PVAc nachgewiesen. Die erwähnte Abhängigkeit der Signalintensität von der Flussrate ist in Abb. 31 veranschaulicht.

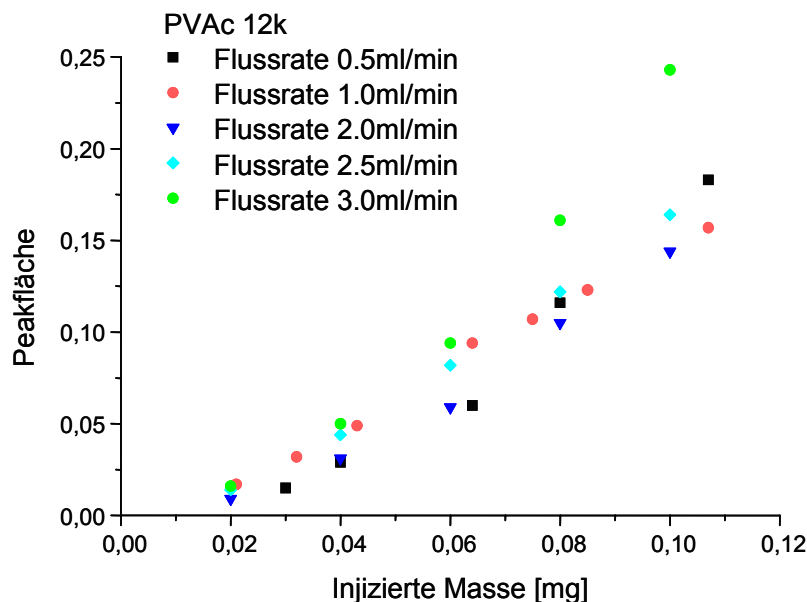


Abb. 31 Detektorkalibrationen für PVAc 12k in THF bei unterschiedlichen Flussraten

Die Abhängigkeit des Responsefaktors von der Flussrate ist in Abb. 31 deutlich zu sehen. Demzufolge muss eine Detektorkalibration immer bei den exakten chromatographischen Bedingungen durchgeführt werden.

4.4 Gekoppelte Methoden zur Charakterisierung der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte

Mit Hilfe der LC-CC (PVAc) ist es möglich, PVAc vom Copolymer abzutrennen und zu quantifizieren. Unter den gewählten chromatographischen Bedingungen ist das PVAc „chromatographisch unsichtbar“. Die Elution des Copolymers beruht ausschließlich auf der Verteilung des PEG-Rückgrats. Hierzu sollen durch Kopplungen der LC-CC mit der SEC (2D-Chromatographie) weitere Informationen gesammelt werden. Außerdem liefert die 2D-Chromatographie auch Hinweise zur Molekulargewichtsverteilung des PVAc und des Copolymers.

Durch die Kopplung der LC-CC mit einer spektroskopischen Methode sollen Informationen zur Verteilung der PVAc-Seitenketten auf das PEG-Rückgrat gefunden werden. Ein unterschiedliches Verhältnis von PEG zu PVAc könnte auf verschiedene Pfropfwahrscheinlichkeiten abhängig vom Molekulargewicht des PEG-Backbones schließen lassen. An dieser Stelle wird die kernmagnetische Resonanzspektroskopie (NMR) gewählt, weil die chemische Zusammensetzung durch zwei jeweils typische Signale bestimmt werden kann.

4.4.1 Analyse der LC-CC-Fractionen mittels ^1H -NMR

Nach Trennung der Proben in eine Copolymer- und eine PVAc-Fraktion mittels LC-CC soll der Copolymerbereich näher betrachtet werden. Dieser ist aufgrund der chromatographischen Bedingungen ausschließlich durch die Verteilung des PEG-Rückgrats bestimmt. Betrachtet man die chemische Zusammensetzung an verschiedenen Stellen dieses Copolymerbereichs könnte dies Hinweise auf die Verteilung von Pfropfästen als Funktion des PEG-Molekulargewichts liefern. Dazu werden die Copolymere fraktioniert (Abb. 32). Die Fraktionen werden nach vorheriger Trocknung in deuteriertem Chloroform (CDCl_3) gelöst und mit Hilfe der ^1H -NMR untersucht.

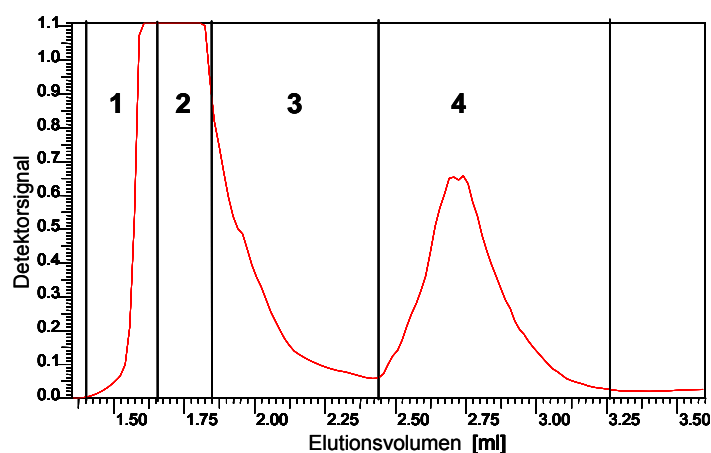


Abb. 32 Fraktionierungsschema zur Identifizierung der LC-CC-Fractionen mittels ^1H -NMR am Beispiel von Probe 12k15u

Wie in Abb. 32 zu sehen, wird der Copolymerbereich in drei Fraktionen (1-3) geteilt. Bei Fraktion 4 handelt es sich wahrscheinlich um PVAc. Die NMR-Spektren der verschiedenen Fraktionen sind den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 33 bis Abb. 36) zu entnehmen.

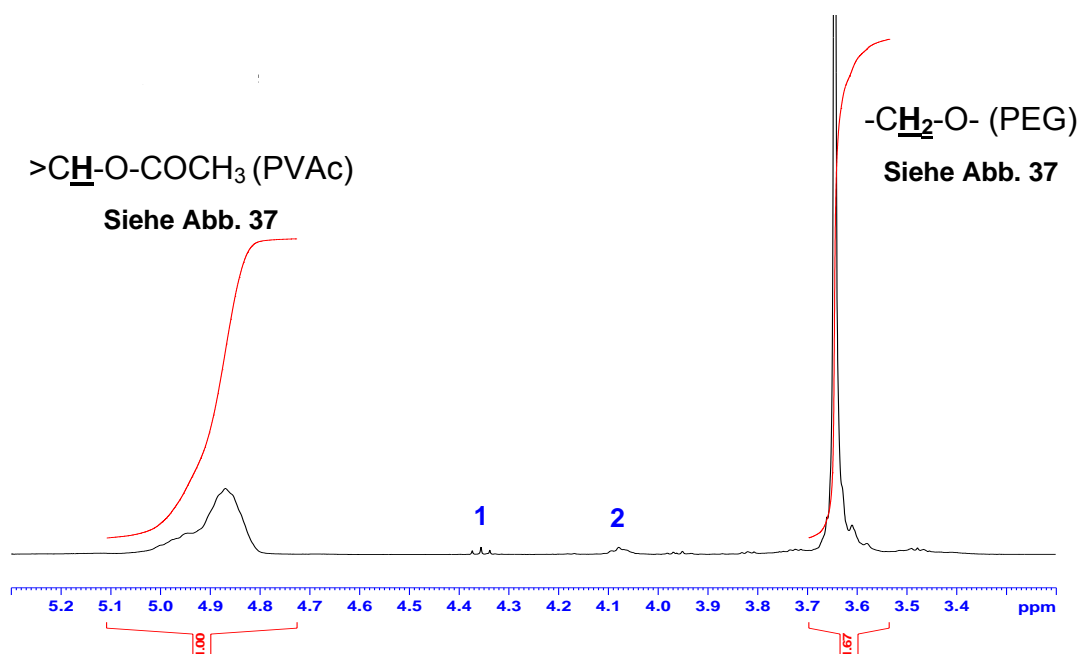


Abb. 33 ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion 1 der Probe 12k15u

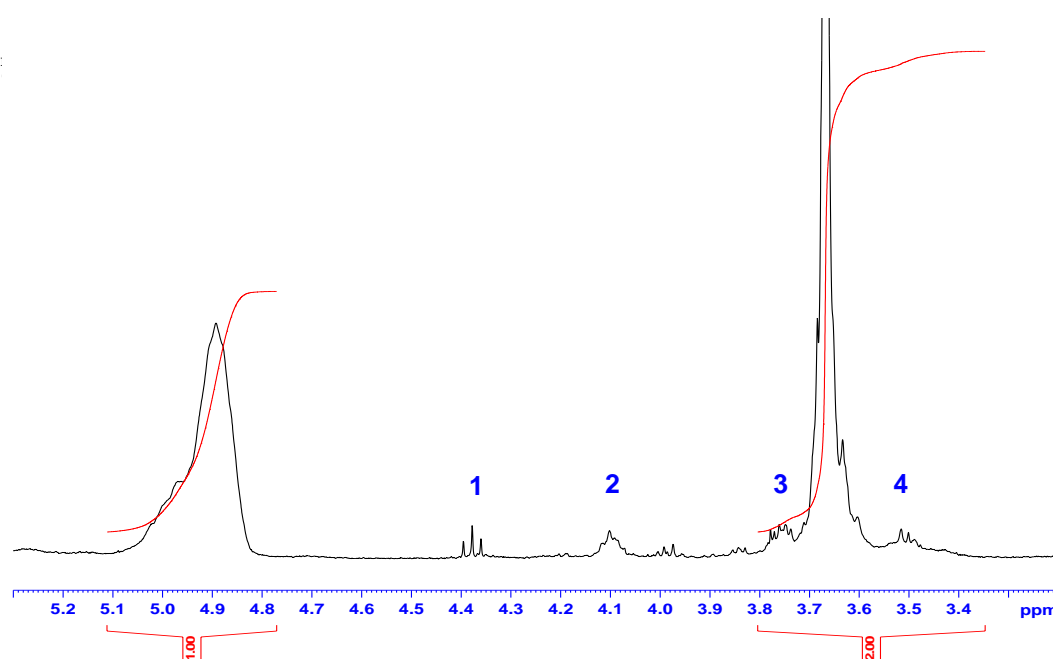


Abb. 34 ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion 2 der Probe 12k15u

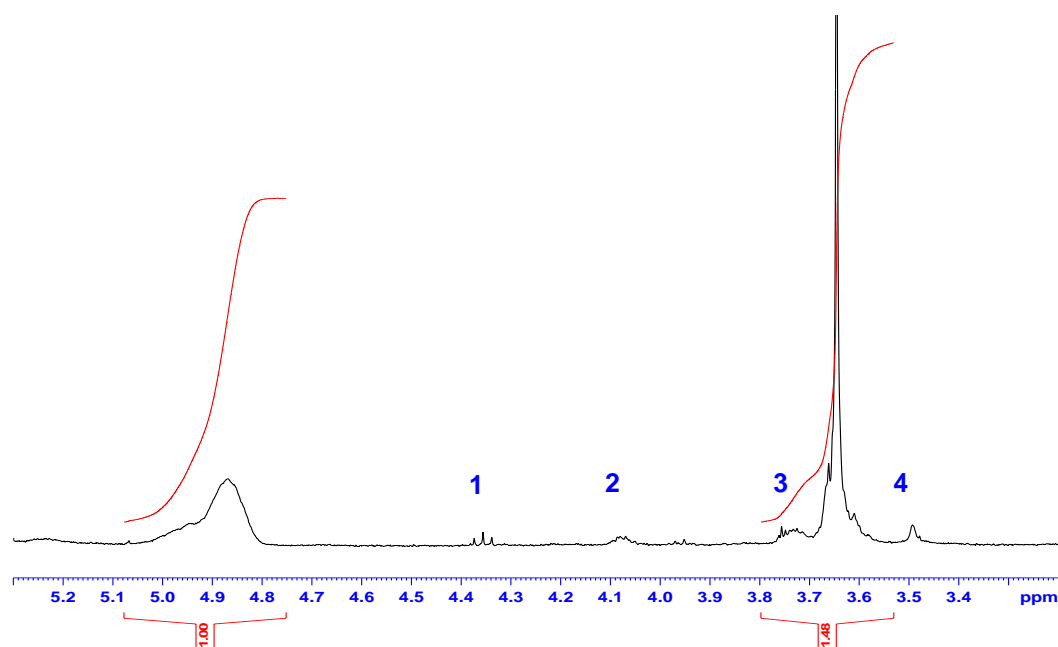


Abb. 35 ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion 3 der Probe 12k15u

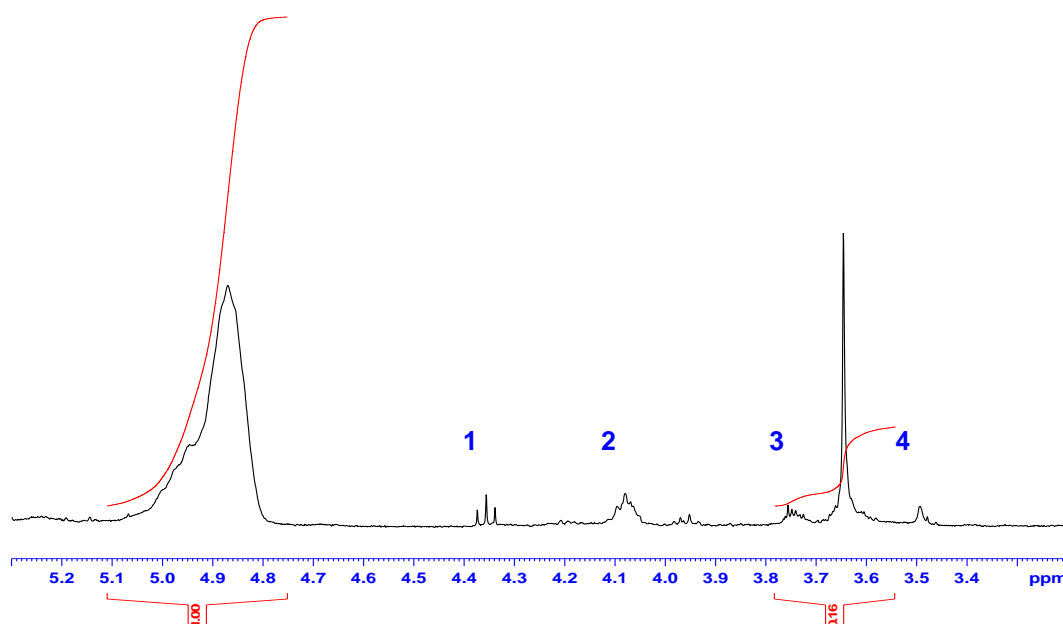


Abb. 36 ^1H -NMR-Spektrum von Fraktion 4 der Probe 12k15u

Bei Signal 1 (etwa 4,35 ppm) handelt es sich nicht um ein polymerrelevantes Signal. Möglicherweise ist durch die Fraktionierung, Trocknung und das Lösen der Proben eine Verunreinigung eingeschleppt worden. Die Signale 3 und 4 werden durch CH_2 -Protonen aus endständigen Ethylenglykoleinheiten hervorgerufen. Signal 3 entsteht dabei aus der letzten CH_2 -Gruppe vor der entsprechenden OH-Endgruppe und Signal 4 wird durch die daran anschließende CH_2 -Gruppe erzeugt. Diese Zuordnung ergibt sich aus zweidimensionalen NMR-Experimenten, die H-H-Kopplungen über mehrere Bindungen analysieren.

Für Signal 2 (chemischen Verschiebung von 4,1 ppm) kann ebenfalls über zweidimensionale NMR-Messungen festgestellt werden, dass es sich um CH_2 -Protonen handelt, bei denen das entsprechende C-Atom eine chemische Verschiebung von 60,3 ppm aufweist. Dies lässt auf ein benachbartes Sauerstoffatom schließen. Außerdem ist über weitreichende C-H-Kopplungen festzustellen, dass die Protonen mit einer O-C-H-Gruppe, einer CH_2 -Gruppe und einer Carbonylgruppe koppeln. Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine Endgruppe, deren chemische Struktur aus den Informationen zur Synthese nicht genau geklärt werden kann.

Die beiden auszuwertenden Signale sind in Abb. 33 bis Abb. 36 mit Integral dargestellt. Es handelt sich dabei um das Signal der CH₂-Gruppen im PEG bei einer chemischen Verschiebung von 3,65 ppm und um das Signal des CH-Protons aus PVAc-Seitenkette bei 4,85 ppm. Die Strukturformel eines PEG-g-PVAc und die entsprechenden chemischen Verschiebungen der relevanten Protonen sind in Abb. 37 zu sehen.

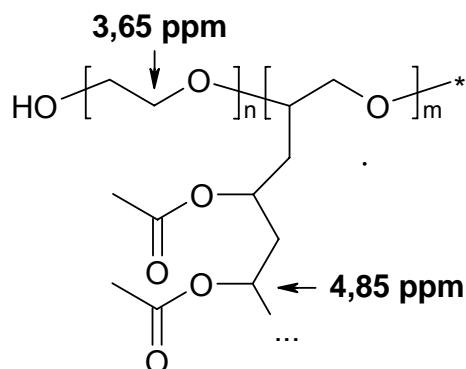


Abb. 37 Strukturformel eines PEG-g-PVAc-Copolymeren mit Angabe der chemischen Verschiebungen für bestimmte Protonen

Über die Intensitäten der angegebenen Signale lassen sich die molaren Zusammensetzungen der Copolymerproben berechnen. Die so erhaltenden Werte sind in Tab. 15 für die Copolymere, die aus PEG-12k synthetisiert wurden, zusammengestellt.

Tab. 15 Chemische Zusammensetzung der LC-CC-Fractionen, aus $^1\text{H-NMR}$

Probe - Fraktion	PEG [mol.-%]	PVAc [mol.-%]	PEG [Gew.-%]	PVAc [Gew.-%]
12k15u-1	29.5	70.5	17.6	82.4
12k15u-2	33.3	66.7	20.4	79.6
12k15u-3	27.0	73.0	15.9	84.1
12k15u-4 (PVAc)	3.8	96.2	2.0	98.0
12k50u-1	71.9	28.1	56.7	43.3
12k50u-2	72.1	27.9	56.9	43.1
12k50u-3	60.6	39.4	44.0	56.0
12k50u-4 (PVAc)	21.8	78.2	12.5	87.5
12k85u-1	95.5	4.5	91.6	8.4
12k85u-2	95.7	4.3	91.9	8.1
12k85u-3	91.1	8.9	84.0	16.0

In Tab. 15 ist zu sehen, dass die molekularen Anteile der jeweiligen Fraktionen 1 – 3 keine deutlichen Unterschiede aufweisen. In Fraktion 4 ist sowohl für Probe 12k15u als auch für Probe 12k50u der geringste PEG-Anteil festzustellen. Diese Tatsache war zu erwarten, da es sich bei dieser Fraktion um das abgetrennte PVAc-Homopolymere handelt. Die kleinen Anteile von PEG sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf Überlappungen der Peaks im Elugramm zurückzuführen, so dass man nach Fraktionierung per Hand im Falle von Probe 12k50u (Fraktion 4) trotzdem 22 mol.-% PEG findet. Beim Vergleich der PVAc-Anteile der Fraktionen 1, 2 und 3 von Probe 12k15u findet man ähnliche Mittelwerte. Dies lässt darauf schließen, dass die Wahrscheinlichkeit der Pfropfung von VAc auf PEG unabhängig von der Länge des Backbones ist. Die Auftrennung des Copolymerbereichs in der LC-CC verläuft nur nach der Molekulargewichtsverteilung des PEG-Rückgrats. Da die PEG-zu-PVAc-Verhältnisse in allen Fällen etwa gleich sind, kann die Vermutung, dass es bei besonders langen PEG-Ketten möglicherweise zu verhältnismäßig weniger Pfropfstellen kommt, nicht bestätigt werden.

In den Fraktionen 1 – 3 der Probe 12k15u werden ca. 82, 80 bzw. 84 Gew.-% PVAc gefunden. Zur Pfropfreaktion eingesetzt wurden 85 Gew.-% PVAc. Der Einbau von VAc in die Pfropfprodukte verläuft somit, wie erwartet, nicht vollständig. Auch bei den Proben 12k50u und 12k85u erhält man dieses Ergebnis.

4.4.2 2D-Chromatographie der PEG-g-PVAc-Copolymere

Nachdem mittels SEC die Molekulargewichtsverteilungen der PEG-g-PVAc-Proben bestimmt wurden, und der PVAc-Homopolymeranteil über die LC-CC vom Copolymeren abgetrennt und quantifiziert werden konnte, soll an dieser Stelle die 2D-Chromatographie Aufschluss über die Korrelation der Verteilungen aus LC-CC und SEC geben.

Durch die 2D-Chromatographie sollen die Proben untereinander verglichen werden. In der 1. Dimension wird im vorliegenden Fall die LC-CC (PVAc) gewählt. Die Copolymere eluieren aufgrund der geringeren Wechselwirkung mit der stationären Phase zuerst und weisen eine Verteilung bezüglich des PEG-Rückgrats auf. Durch Fraktionierung dieses Copolymerbereichs und die anschließenden SEC-Experimente für jede Fraktion, soll diese Verteilung näher untersucht werden. Auch die Molekulargewichtsverteilung von z.T. vorhandenem PVAc kann über die 2D-Chromatographie näher bestimmt werden. Die 2. Dimension ist die SEC mit THF als mobiler Phase.

Durch die Wahl dieser beiden chromatographischen Methoden werden PEG und PVAc sehr gut voneinander getrennt. Für eine erste Orientierung wird eine Modellmischung aus PEG 1,5k und PVAc 12k (1:1) untersucht. Die chromatographischen Bedingungen sind:

1. Dimension (LC-CC PVAc)

Säule: M&N NUCLEODUR C18 PYRAMID 5 μ (250 x 4,6 mm)
Eluent: THF/Wasser 71,8/21,2 Vol.-%
Temperatur: 35°C
Flussrate: 0,018 ml/min

2. Dimension (SEC)

Säule: PSS SDV 10⁴ High Speed
Eluent: THF

Temperatur: Raumtemperatur

Flussrate: 2,5 ml/min

Der 2D-Konturplot der Modellmischung ist in Abb. 38 zu sehen.

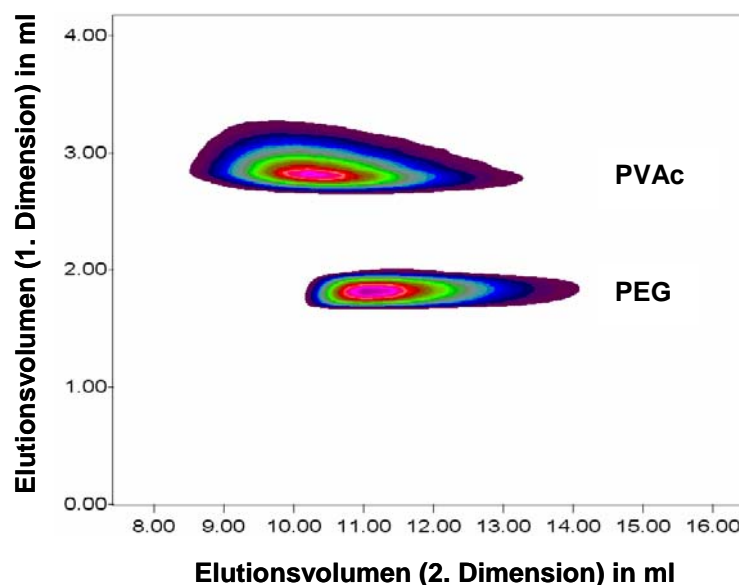


Abb. 38 2D-Konturplot für die Modellmischung von PEG 1,5k und PVAc 12k

Abb. 38 bestätigt, dass PEG und PVAc unter den gewählten chromatographischen Bedingungen deutlich voneinander getrennt werden können. Neben dieser Auftrennung erhält man für beide Bestandteile eine Verteilung in der 2. Dimension (x-Achse). In diesem speziellen Fall ist zu beobachten, dass das untersuchte PVAc im Vergleich zum PEG eine breitere Molekulargewichtsverteilung aufweist. Mit Hilfe einer PVAc-Kalibration in der 2. Dimension (SEC) erhält man die jeweiligen Molekulargewichtsmittelwerte. Aus der Kalibrationskurve kann man für die Bestandteile der Modellmischung „per Hand“ folgende Werte ablesen: $M_n(\text{PEG}) = 1.500 \text{ g/mol}$, $M_w(\text{PEG}) = 3.300 \text{ g/mol}$; $M_n(\text{PVAc}) = 5.500 \text{ g/mol}$ und $M_w(\text{PVAc}) = 11.400 \text{ g/mol}$.

Die Volumenanteile aus dem 2D-Konturplot der Modellmischung betragen: PEG: 52 Vol.-% und PVAc 48 Vol.-%. Die leichte Abweichung von den erwarteten Werten 50/50 Vol.-% kann durch die verschiedenen Responsefaktoren der beiden Polymere erklärt werden.

Die ersten 2D-Experimente in der Polymeranalytik haben viele Stunden in Anspruch genommen³². Auch in der gegenwärtigen Forschung werden

Polymerproben durch Einsatz von besonders kleinen Speicherschleifen (bis zu einem Volumen von 1 μ l) und sehr langsamen Flussraten sehr genau analysiert⁸⁷. Der Zeitaufwand der beschriebenen Arbeiten ist dabei sehr hoch. Ziel dieser Arbeit ist es jedoch, die 2D-Chromatographie zu beschleunigen, ohne dabei Trennleistung zu verlieren. Es ist bekannt, dass es einen Zusammenhang zwischen Flussrate, Säulenlänge, Partikelgröße der stationären Phase, Säulengegendruck und Trennleistung gibt.²⁸ Nach Optimierung der 2D-Chromatographie sollen die chromatographischen Bedingungen gefunden werden, bei denen die volle Trennleistung in der kleinstmöglichen Zeit erreicht wird. Wenn es gelänge, ein 2D-Experiment in einer Stunde durchzuführen, dann könnte diese sehr aufwendige chromatographische Methode möglicherweise deutlich breitere Anwendungsgebiete finden.

Im vorliegenden Fall soll die Abtrennung und Quantifizierung des PVAc-Anteils erreicht werden, und zusätzlich reproduzierbare Molekulargewichtsverteilungen der Pfropfprodukte gefunden werden.

Um den Zeitaufwand eines 2D-Experiments zu minimieren, sollen alle Parameter optimiert werden, die zur Beschleunigung des Experimentes beitragen können. Zum einen wird eine Speicherschleifengröße von 100 μ l gewählt. Das Eluat der 1. Dimension wird somit in 100 μ l-Fractionen aufgetrennt, und jede einzelne dann über das Acht-Port-Schaltventil in die 2. Dimension überführt. Der zweite mögliche Parameter ist die Flussrate der 2. Dimension. In der nachfolgenden Abbildung (Abb. 39) ist die schrittweise Erhöhung der Flussrate bzw. die zugehörigen 2D-Konturplots zu sehen. Dabei kann der Zeitbedarf für ein 2D-Experiment von 4 Stunden (2,5 ml/min in der 2. Dimension) über 2,5 Stunden (4,5 ml/min in der 2. Dimension) auf 70 Minuten reduziert werden.

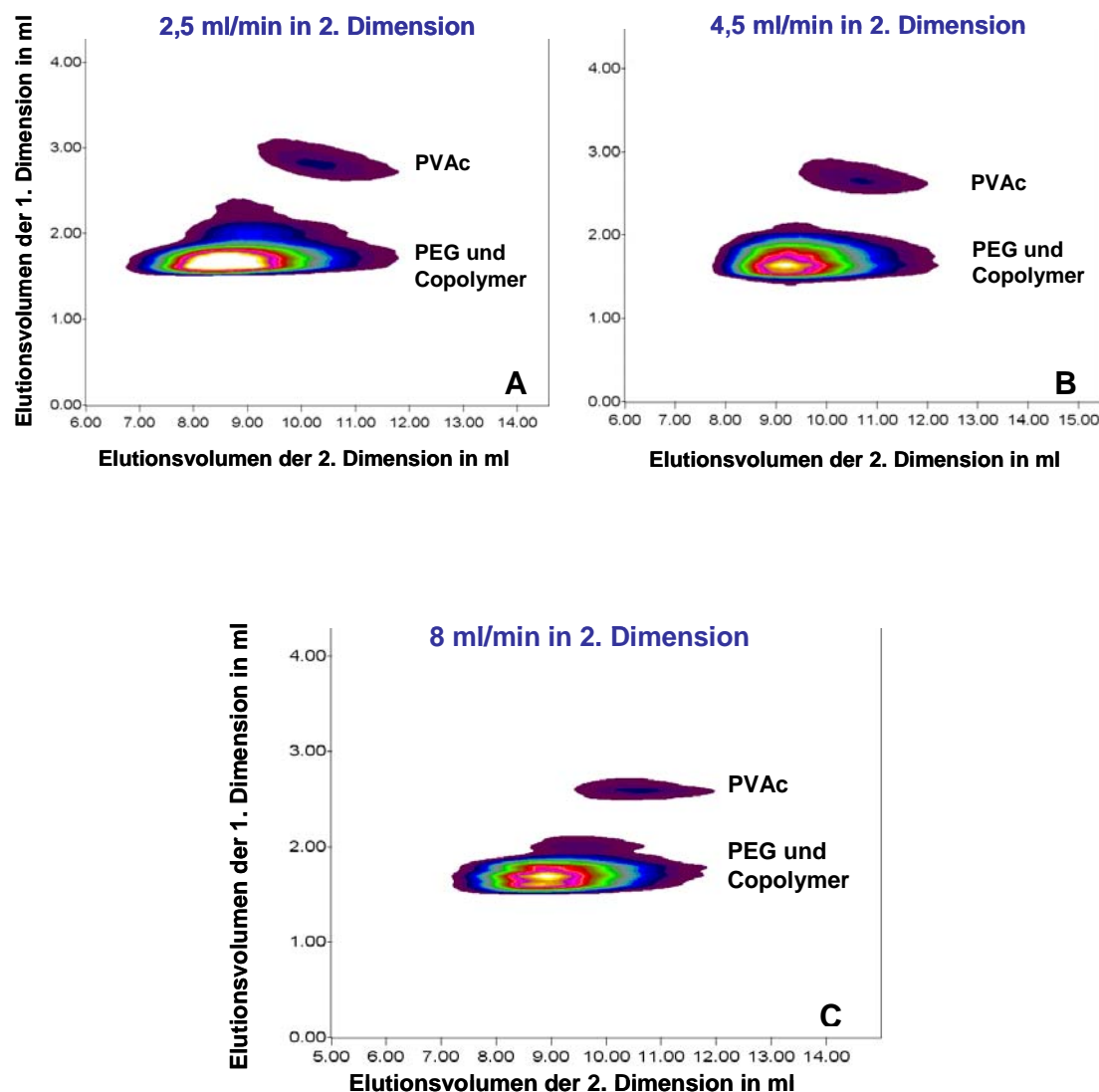


Abb. 39 2D-Konturplots der Probe 12k15s bei unterschiedlichen Flussraten in der 2. Dimension: A: 2,5 ml/min, B: 4,5 ml/min, C: 8 ml/min

Die chromatographischen Bedingungen (ausgenommen Flussrate) entsprechen in allen Fällen den beim 2D-Experiment der Modellmischung beschriebenen „Standardbedingungen“.

Aus Abb. 39 wird ersichtlich, dass die Trennung unabhängig von der Flussrate gleich gut bleibt. In allen Fällen wird bei der 2D-Chromatographie von Probe 12k15u ein kleiner PVAc-Homopolymer-Anteil detektiert. Zur Überprüfung der Robustheit der chromatographischen Bedingungen sollen Untersuchungen hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der 2D-Experimente durchgeführt werden. Dabei sollen auch die quantitativen Auswertungen

miteinander verglichen werden. Die Untersuchungen werden ausschließlich bei den höheren Flussraten in der 2. Dimension durchgeführt.

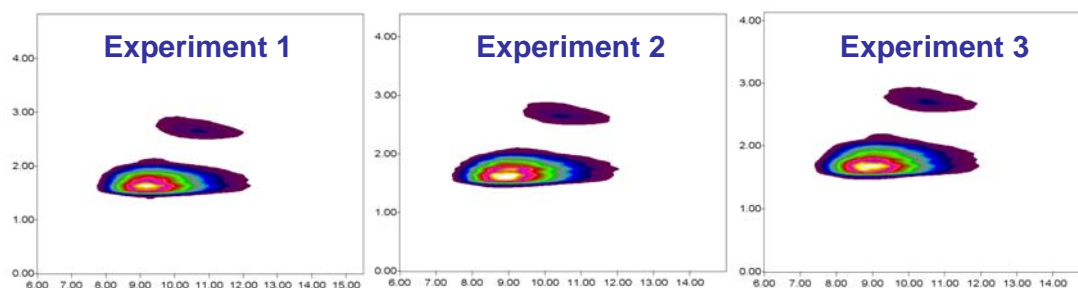


Abb. 40 2D-Konturplots der Reproduzierbarkeitsuntersuchungen – Tag 1: Probe 12k15u, Flussrate der 2. Dimension: 4,5 ml/min (1. Dimension: 0,032 ml/min), Eluent 2. Dimension: THF

Die 2D-Experimente, deren Konturplots in Abb. 40 zu sehen sind, wurden am ersten Tag direkt nacheinander durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit ist sehr gut. Die Messungen werden auch am Folgetag wiederholt, ohne dabei eine frische Probelösung anzusetzen. Auch die mobile Phase wird nicht erneuert. Die entsprechenden 2D-Konturplots sind in Abb. 41 nebeneinander dargestellt.

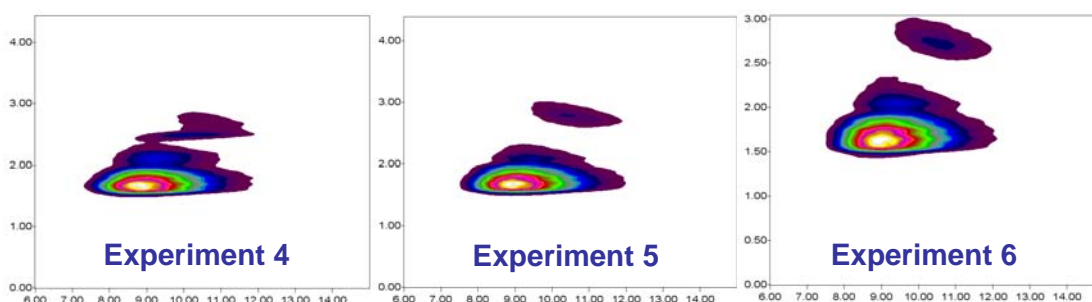


Abb. 41 2D-Konturplots der Reproduzierbarkeitsuntersuchungen – Tag 2: Probe 12k15u, Flussrate der 2. Dimension: 4,5 ml/min (1. Dimension: 0,032 ml/min), Eluent 2. Dimension: THF

Wie Abb. 41 deutlich zeigt, wird bei den Messungen am 2. Tag ein leichtes Driften des PVAc-Bereiches zu höheren Elutionsvolumina in der 1. Dimension beobachtet. Dies kann an der Veränderung der Zusammensetzung des Eluenten liegen. Diese Veränderung ist möglicherweise auf eine mangelnde Abdichtung der Vorratsflasche der mobilen Phase der

1. Dimension zurückzuführen. Der Wasseranteil im Eluentengemisch steigt möglicherweise durch Verdampfen des THF an, so dass man sich nicht mehr am kritischen Punkt der Adsorption von PVAc befindet. Durch diese veränderte Zusammensetzung der mobilen Phase werden die Wechselwirkungen des PVAc zur stationären Phase erhöht, was mit einer Erhöhung des Elutionsvolumens einhergeht. Zum besseren Vergleich der Ergebnisse werden die 2D-Konturplots aus den Abb. 40 und Abb. 41 hinsichtlich der Peaklagen und Volumenanteile von PVAc und Copolymer ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 16 zusammengestellt. Mit Peak 1 ist dabei immer der Copolymerbereich, mit Peak 2 der PVAc-Anteil bezeichnet.

Tab. 16 Auswertung der 2D-Reproduzierbarkeits-Experimente von Probe 12k15u bei einer Flussrate von 4,5 ml/min in der 2. Dimension

Exp.	Elutionsvolumen der 1. Dimension [ml]		Elutionsvolumen der 2. Dimension [ml]		Volumenanteil	
	Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak2	Peak 1	Peak 2
1	1,64	2,65	9,20	10,69	90,77	7,02
2	1,62	2,64	9,03	10,49	92,00	6,25
3	1,69	2,69	9,00	10,62	91,22	6,88
4	1,69	2,49	8,84	10,11	90,15	7,38
5	1,69	2,79	9,09	10,34	91,17	6,69
6	1,63	2,73	8,90	10,65	90,98	7,28

Aus Tab. 16 geht hervor, dass die Reproduzierbarkeit der 2D-Experimente für Probe 12k15u bei einer Flussrate von 4,5 ml/min in der 2. Dimension am 1. Tag der Untersuchungen sehr gut ist. Am 2. Tag verschlechtert sie sich etwas, was besonders an der Streuung der Werte der Elutionsvolumina der beiden Peaks in der 1. Dimension erkennbar ist. Die Auftrennung in Copolymer und PVAc ist jedoch noch immer zufrieden stellend. Um ein Verdampfen des THF-Anteils im Eluenten der 1. Dimension zu verhindern, und so die eingestellte Eluentzusammensetzung beizubehalten, wird das Vorratsgefäß des Eluenten der 1. Dimension im Folgenden immer mit Parafilm abgedichtet, und bei höheren Außentemperaturen zusätzlich

gekühlt. Dadurch kann eine bessere Reproduzierbarkeit gewährleistet werden. Die gleichen Reproduzierbarkeitsexperimente werden bei einer Flussrate von 8 ml/min in der 2. Dimension wiederholt. Es werden hier weiterhin zwei Experimente durchgeführt, bei denen der Probe 12k15u 11,5% reines PVAc 12k zugesetzt wird. Die resultierenden 2D-Konturplots sind in Abb. 42 zu sehen. Bei den Experimenten 1 und 2 erfolgen die Messungen ohne PVAc-Zusatz. Die beiden Konturplots der Experimente 3 und 4 werden erhalten, nachdem Probe 12k15u mit 11,5% PVAc 12k versetzt wird.

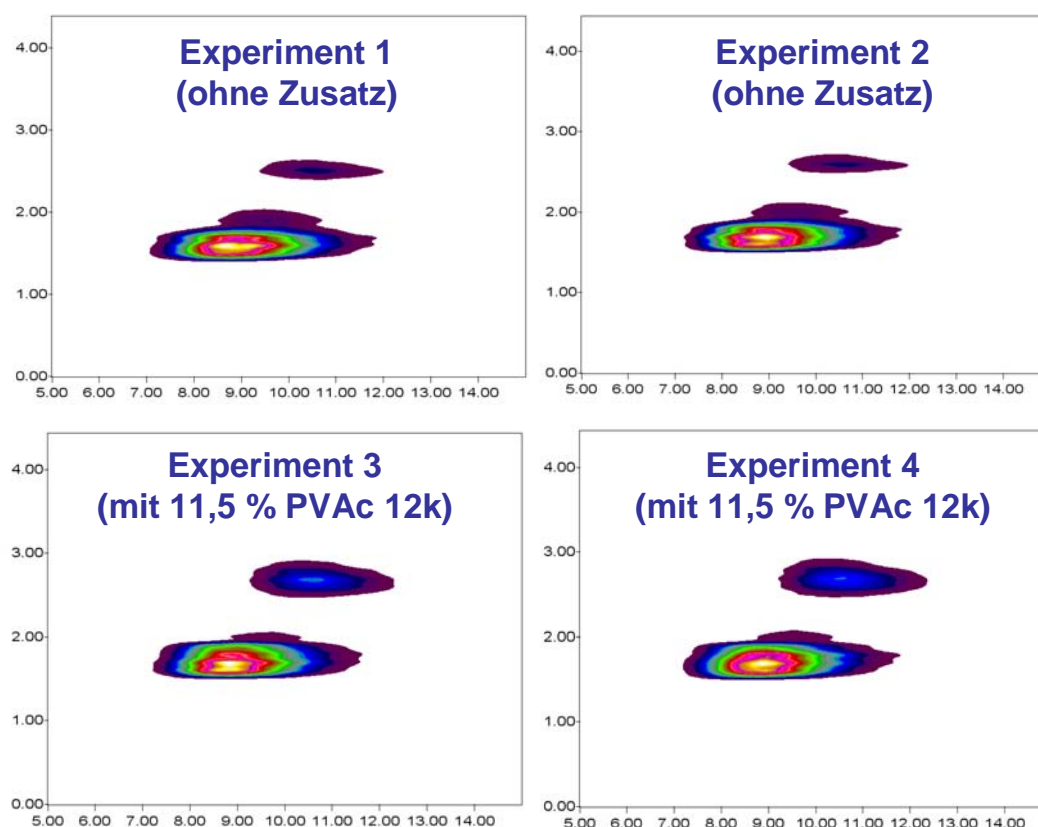


Abb. 42 2D-Konturplots der Reproduzierbarkeitsuntersuchungen: Probe 12k15u ohne und mit Zusatz (11,5%) von PVAc 12k, Flussrate der 2. Dimension: 8 ml/min (1. Dimension: 0,057 ml/min), Eluent 2. Dimension: THF

Die Reproduzierbarkeit der Experimente ist ausgezeichnet, was durch Abb. 42 eindeutig belegt wird. Der PVAc-Bereich wächst in den Experimenten 3 und 4 deutlich an, was durch den Zusatz an PVAc zu erwarten war. Auch für diese vier Reproduzierbarkeitsexperimente wurden die quantitativen Auswertungen durchgeführt. Dabei wird besonders auf den Zuwachs des

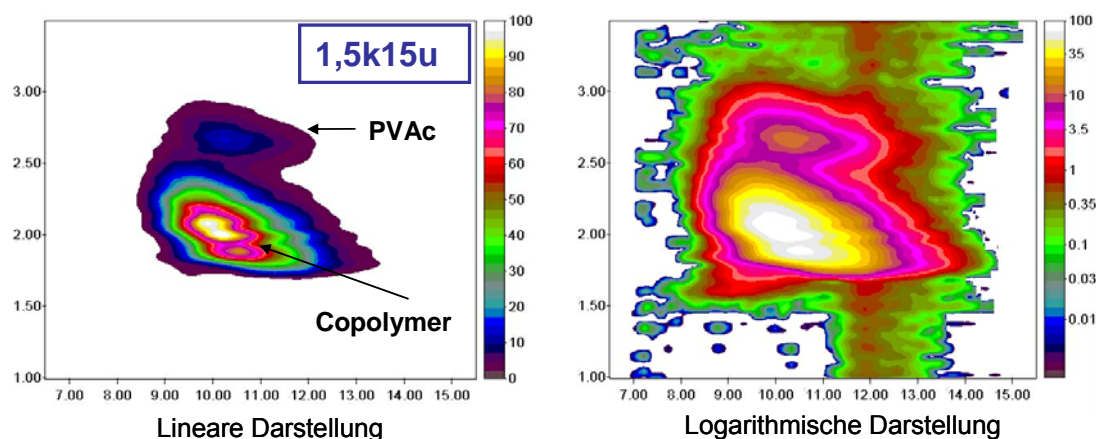
Volumenanteils von PVAc von Experimenten 3 und 4 im Vergleich zu den Experimenten 1 und 2 geachtet. Alle resultierenden Peaklagen und Volumenanteile sind nachfolgender Tabelle zu entnehmen.

Tab. 17 Auswertung der Volumenanteile der 2D-Konturplots von Probe 12k15u mit und ohne Zusatz von 11,5% PVAc

Experiment	Copolymer - Bereich	PVAc - Bereich
1	93,2	5,8
2	93,6	5,6
3 (+ 11,5% PVAc 12k)	84,5	14,9
4 (+ 11,5% PVAc 12k)	83,9	15,3

Vergleicht man die Werte der Volumenanteile von Experiment 1 und 2 mit den Werten für 3 und 4, so wird eine gute Übereinstimmung mit der zugegebenen Menge an PVAc 12k gefunden. Damit erhält man neben der sehr guten Reproduzierbarkeit auch eine Angabe über den Volumenanteil des PVAc, die etwa der tatsächlichen Größenordnung in der Polymerprobe entspricht.

Nachdem die Reproduzierbarkeit der 2D-Experimente (mit einer Flussrate von 8 ml/min in der 2. Dimension) bestätigt werden konnte, sollen unter diesen chromatographischen Bedingungen die PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte, die aus dem niedermolekularsten PEG 1,5k und aus dem höhermolekularen PEG 12k hergestellt wurden, untersucht werden. Die Konturplots sind in den nachfolgenden Abbildungen zusammengestellt.



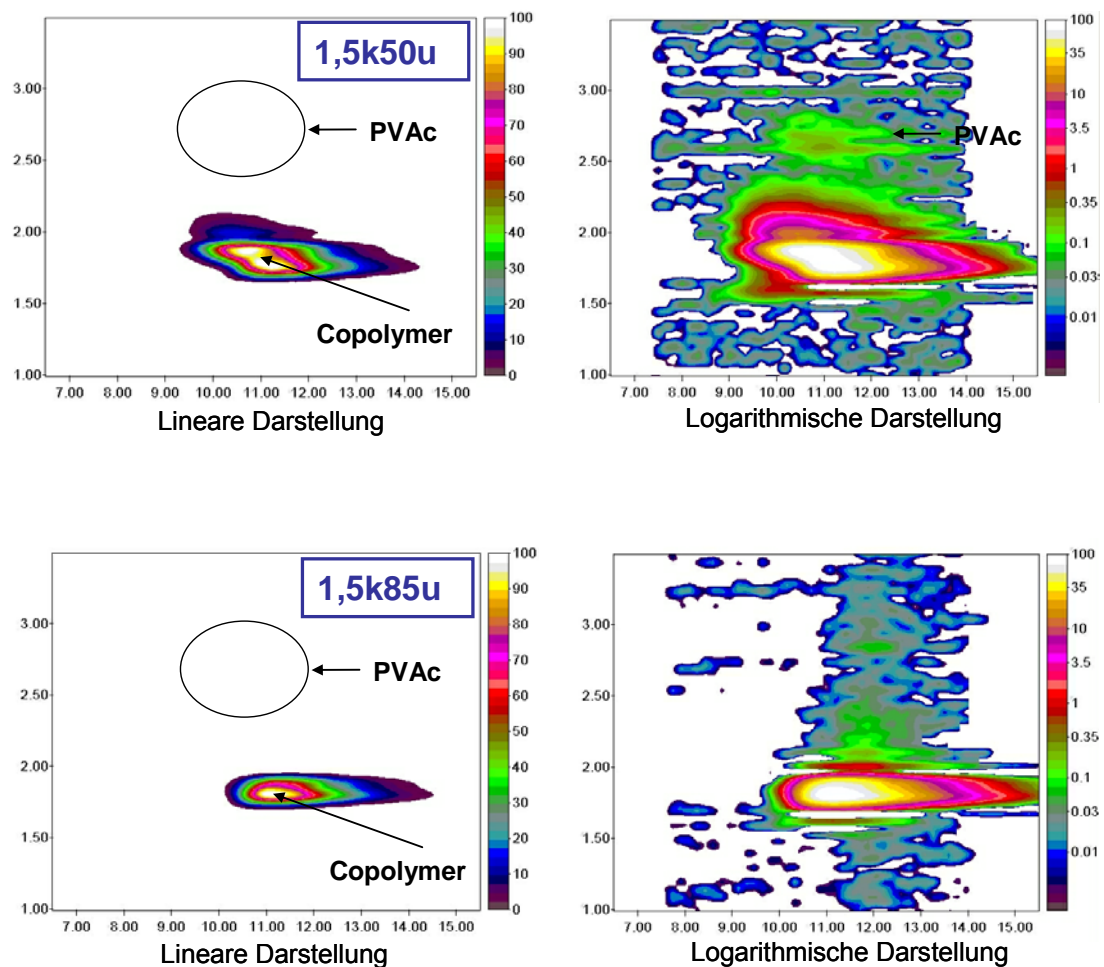


Abb. 43 2D-Konturplots der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte aus PEG 1,5k; Flussrate in der 2. Dimension 8 ml/min (1. Dimension 0,057 ml/min), Zeitbedarf für ein 2D-Experiment: 70 Minuten

Abb. 43 zeigt die Konturplots der Pfropfprodukte, die aus PEG 1,5k hergestellt wurden. Dabei werden zwei Arten der Darstellung gewählt. Die lineare Darstellung gibt die Konzentrationsverteilung der verschiedenen Komponenten in der Art wider, wie sie durch Zusammenstellung der einzelnen SEC-Chromatogramme erhalten wird. Bei der logarithmischen Darstellung wird die Konzentrationsauftragung (Farbcodierung) logarithmisch vorgenommen. Dadurch lassen sich Komponenten mit sehr geringer Konzentration besser erkennen. Der Konturplot der Probe 1,5k15u weist eine deutliche Bimodalität auf. In Übereinstimmung mit den eindimensionalen Messungen lassen sich die beiden Bereiche dem PEG-g-PVAc-Copolymer und PVAc-Homopolymer zuordnen. Diese Bimodalität wird auch in der logarithmischen Darstellung klar erkannt. Der Elutionsbereich des PVAc ist

im Vergleich zum Copolymer zu höheren SEC-Elutionsvolumina verschoben. Dies weist auf ein geringeres Molekulargewicht des PVAc gegenüber dem Copolymer hin.

In Probe 1,5k50u ist nur in der logarithmischen Darstellung des 2D-Konturplots ein PVAc-Anteil zu sehen. Das Elutionsvolumen des PVAc in der SEC entspricht etwa dem des Copolymers, was auf ähnliche Molekulargewichte hindeutet. In Probe 1,5k85u kann, wie erwartet, kein PVAc gefunden werden. Um den Detektionsbereich in den beiden unterschiedlichen Darstellungen nochmals zu vergleichen, wird eine der Proben mit PVAc 12k versetzt. Das Ergebnis ist in Abb. 44 gezeigt.

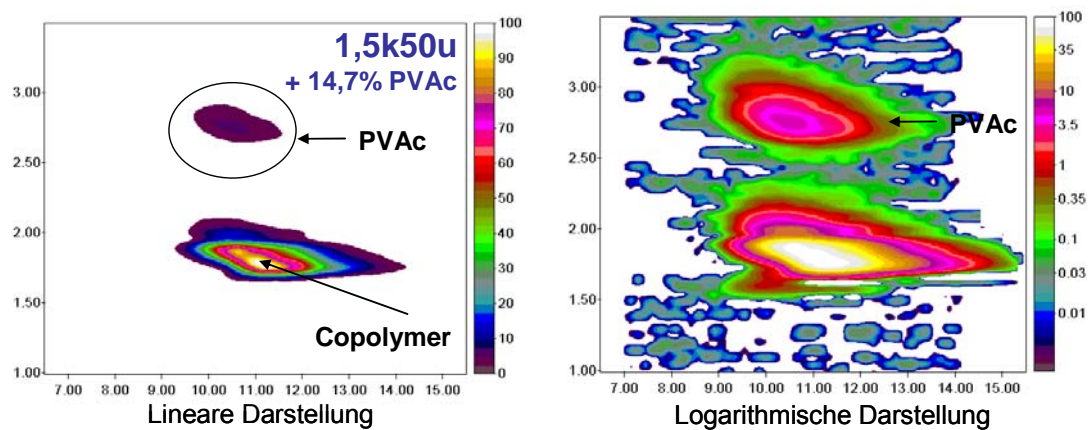


Abb. 44 2D-Konturplot von Probe 1,5k50u, welche mit 14,7% PVAc 12k versetzt ist

Wie man Abb. 44 entnehmen kann, kann ein PVAc-Anteil von über 10% in der linearen Darstellung des 2D-Konturplots detektiert werden. Das Detektionslimit für die logarithmische Darstellung liegt deutlich unter 10%. Die genauen Grenzbereiche werden etwas später in Form einer Detektorkalibration für diese zweidimensionalen Bedingungen überprüft. Die 2D-Konturplots der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte, die aus PEG 12k hergestellt wurden, sind in Abb. 45 gezeigt.

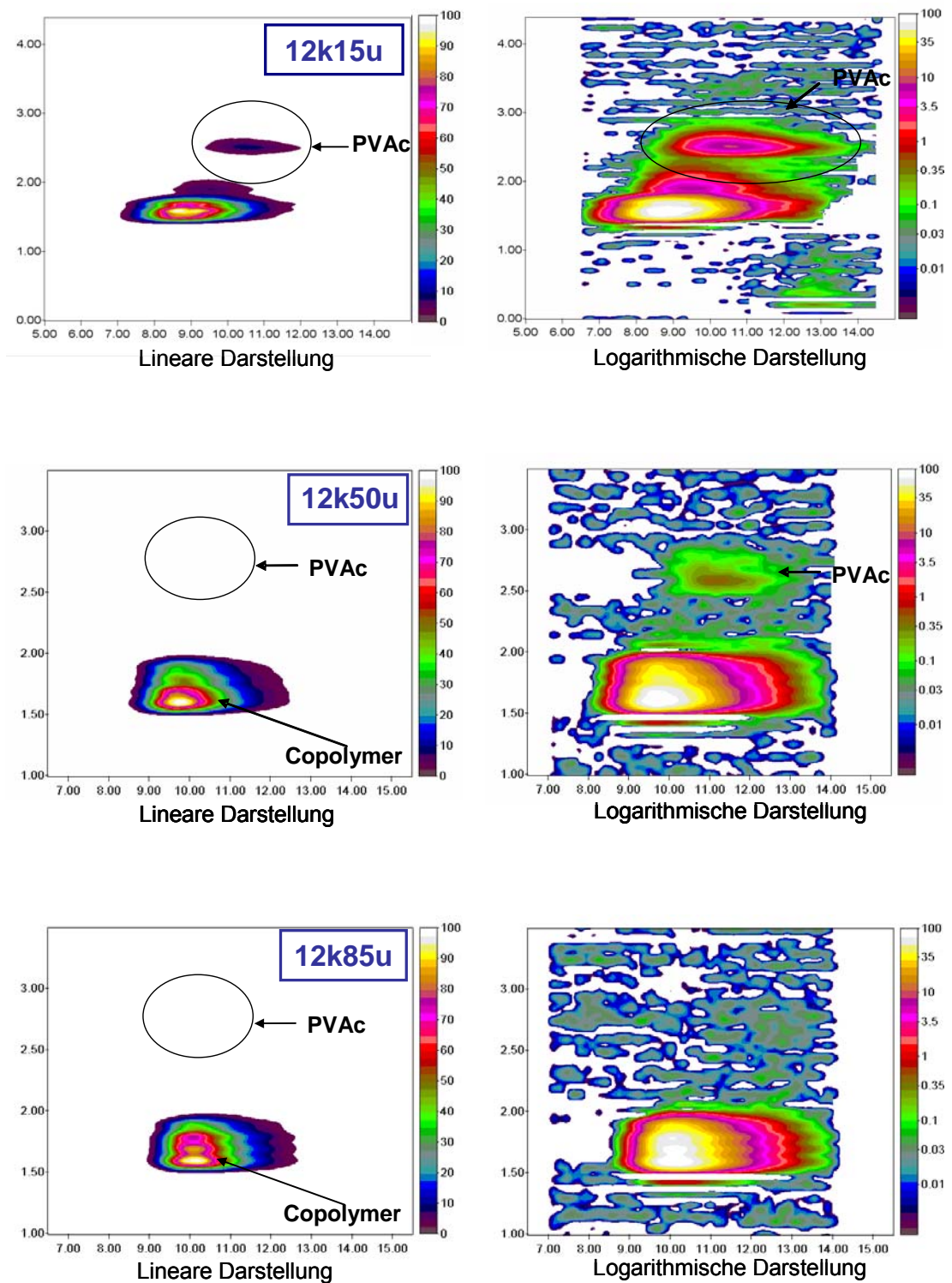


Abb. 45 2D-Konturplots der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte aus PEG 12k; Flussrate in der 2. Dimension 8 ml/min (1. Dimension 0,057 ml/min), Zeitbedarf für ein 2D-Experiment: 70 Minuten

Wie Abb. 45 zeigt, enthalten die Proben 12k15u und 12k50u einen kleinen Anteil an homopolymerem PVAc. Das Elutionsvolumen der 2. Dimension

liegt für die PVAc-Anteile beider Pfropfprodukte im Vergleich zum Copolymer etwas höher. Das heißt, dass das Molekulargewicht des PVAc-Homopolymers im Vergleich zum entsprechenden Copolymer niedriger ist. Vergleicht man die 2D-Konturplots der verschiedenen Copolymere, so lässt sich feststellen, dass das Pfropfprodukt aus PEG 1,5k mit dem höchsten PEG-Anteil (1,5k85u) einen sehr homogenen Copolymerpeak hervorbringt. Die entsprechende Probe, die aus PEG 12k hergestellt wurde liefert einen etwas breiteren Peak.

Bereits in der LC-CC(Abschnitt 4.3) wurde darauf hingewiesen, dass es für unterschiedliche Polymere in einem chromatographischen System große Unterschiede in der Detektorresponse geben kann. Um also die PVAc-Anteile in den PEG-g-PVAc-Pfropfprodukten quantifizieren zu können, muss auch für dieses 2D-chromatographische System eine Detektorkalibration durchgeführt werden. Diese Kalibration muss unter exakten 2D-Bedingungen durchgeführt werden, da auch Unterschiede in den Responsefaktoren einer Probe gefunden werden, wenn die Peakflächen eines eindimensionalen SEC-Experimentes (mit gleicher Flussrate wie im 2D-Experiment) mit denen aus dem 2D-Experiment verglichen werden.

Es werden Modellmischungen aus PEG und PVAc hergestellt, und diese unter den gleichen chromatographischen Bedingungen wie vorher die Copolymerproben untersucht.

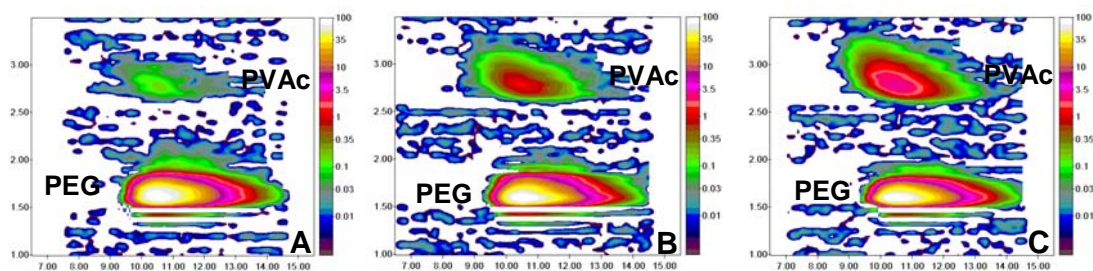


Abb. 46 2D-Konturplots einiger Modellmischungen aus PEG 6k und PVAc 12k; A: 3,3% PVAc 12k, B: 10,8% PVAc 12k und C: 20,5% PVAc 12k

Mit stetig steigendem PVAc-Anteil nimmt der Volumenanteil dieses Bereiches im 2D-Konturplot der PEG-PVAc-Modellmischungen zu. Zur Überprüfung des Molekulargewichtseinflusses auf die Volumenanteile im 2D-Konturplot werden in einer zweiten Serie Modellmischungen aus PEG 6k und

PVAc 37k untersucht. Die entsprechenden 2D-Konturplots sind in Abb. 47 gezeigt.

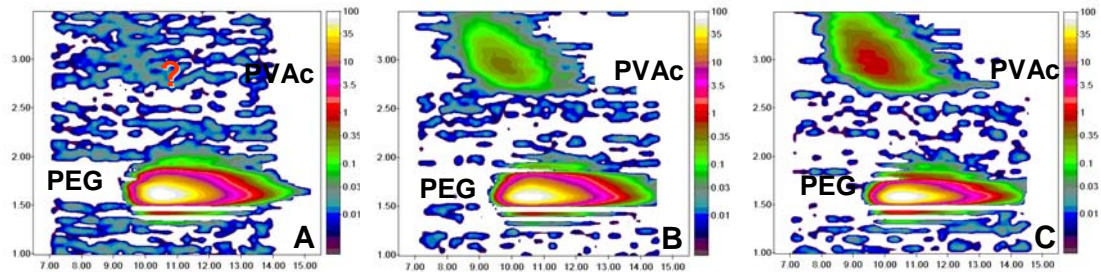


Abb. 47 2D-Konturplots einiger Modellmischungen aus PEG 6k und PVAc 37k;
A: 3,2% PVAc 12k, B: 12,5% PVAc 12k und C: 19,7% PVAc 37k

Während 3% PVAc 12k nachgewiesen werden können, ist das beim höhermolekularen PVAc 37k nicht möglich. Mögliche kleinere Anteile an höhermolekularem PVAc sind somit schwerer zu finden als entsprechende Anteile eines niedermolekularen PVAc.

Zum besseren Vergleich der Ergebnisse sind die Volumenanteile aus den 2D-Konturplots in nachfolgendem Diagramm gegen die jeweils injizierten Massen aufgetragen.

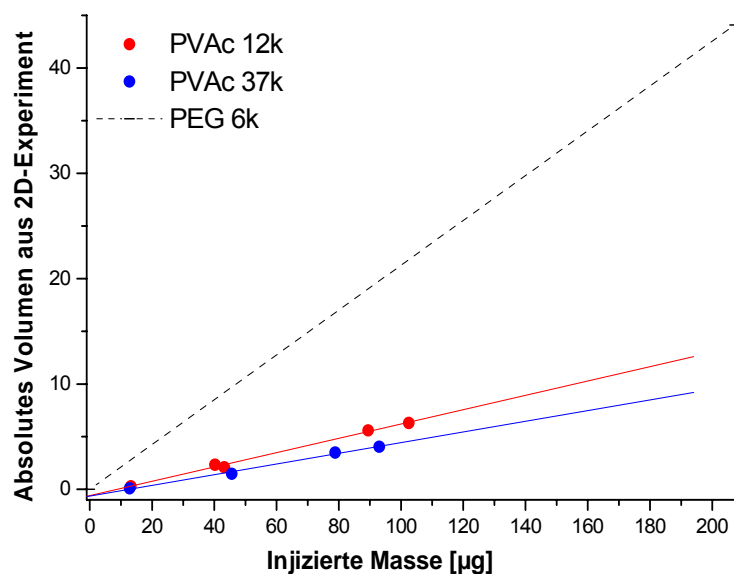


Abb. 48 Vergleichende Darstellung der Detektorresponsefaktoren von PEG 6k, PVAc 12k und PVAc 37k

Der Responsefaktor von PEG ist im Vergleich zu denen der PVAc-Standards deutlich höher. Vergleicht man die beiden Kalibrationskurven für PVAc 12k und PVAc 37k, so liegt die für PVAc 12k über der Kurve des höhermolekularen PVAc-Standards. Da nicht bekannt ist, wie hoch das Molekulargewicht des bei der Pfropfreaktion gebildeten PVAc ist, kann es bei der Quantifizierung der PVAc-Anteile zu erheblichen Fehlern kommen. Die Auswertungen der 2D-Konturplots der vier Pfropfprodukte, in denen PVAc gefunden werden konnten, sind in Tab. 18 zusammengestellt.

Tab. 18 **Anteile an PVAc in den Pfropfprodukten (ermittelt durch 2D-Chromatographie)**

Probe	abs. Volumen	Masse PVAc aus PVAc 12k- Kalib. [µg]	Gew. %	Masse PVAc aus PVAc 37k- Kalib. [µg]	Gew.-%
1,5k15u	7,63	117	11,7	165	16,5
1,5k50u	0,86	21	2,1	29	2,9
12k15u	6,92	98	9,8	150	15,0
12k50u	0,51	16	1,6	22	2,2

Wie auch durch eindimensionale LC-CC wird bei der Quantifizierung der PVAc-Anteile in Probe 1,5k15u der größte Anteil gefunden. Vergleicht man die Werte, die aus der PVAc 12k-Kalibrierung bzw. aus der PVAc 37k-Kalibrationskurve berechnet wurden, so kann man feststellen, dass diese jeweils mit 16 – 20 % um einen Mittelwert schwanken. Aus der Lage der Peaks der PVAc-Anteile in den jeweiligen 2D-Konturplot geht jedoch hervor, dass es sich eher um niedermolekulareres PVAc handelt. Daher ist die Auswertung mit Hilfe der PVAc 12k-Kalibrationskurve vorzuziehen.

4.4.3 2D-Chromatographie mit Gradient in der 1. Dimension

Wie bereits beschrieben, eluiert besonders das PVAc unter den chromatographischen Bedingungen der LC-CC in Form von breit verteilten, flachen Peaks. Fraktioniert man in der 2D-Chromatographie solche breiten PVAc-Peaks, so erhält man jeweils Fraktionen, die nur wenig PVAc enthalten. Wenn es gelänge, dass PVAc in Form eines schmalen, hohen

Peaks eluiert, dann würde die Anzahl der Fraktionen, die PVAc enthalten, abnehmen. Diese würden jedoch jeweils mehr PVAc enthalten.

Um die Breite des Peaks zu verringern, muss versucht werden, die Güte des Lösungsmittels bzw. des Eluenten beim Elutionsvolumen dieser Bestandteile zu verbessern. Durch Einsatz eines Gradienten (Tab. 19) kann dies erreicht werden.

Tab. 19 Gradient zur Verringerung der Peakbreite von PVAc (LC-CC)

Zeit [min]	THF [Vol.-%]	Wasser [Vol.-%]
0	71,8	28,2
0,01	100	0
3	100	0
4	71,8	28,2

Das apparativ bedingte Verzögerungsvolumen des Gradienten beträgt ca. 2 ml. Damit eluiert das PEG unter den angegebenen Eluentenbedingungen am kritischen Punkt, während das PVAc mit dem Gradienten eluiert.

Das Ergebnis, was durch den oben beschriebenen Gradienten erreicht wird, ist in nachfolgender Abbildung zu sehen. Hier sind die Elugramme von zwei LC-CC-Experimenten von einer Mischung aus 52% PVAc 37k und 48% PEG 6k überlagert.

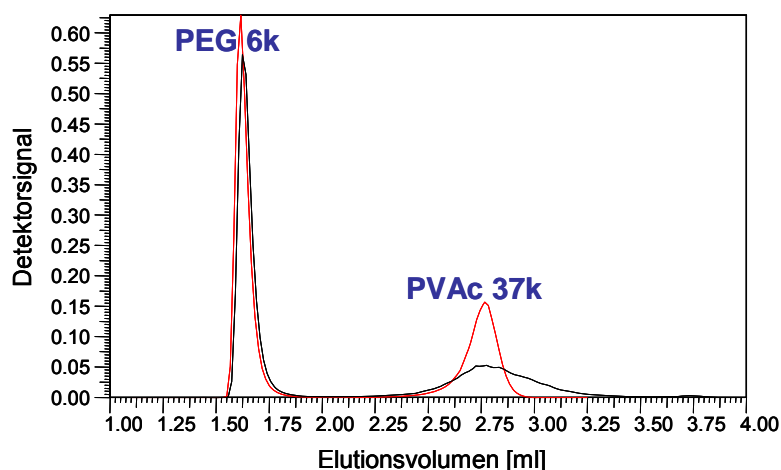


Abb. 49 Überlagerung der Elugramme der Modellmischung PEG 6k (48%) + PVAc 37k (52%): ohne Gradient: schwarze Kurve; mit Gradient (Tab. 19): rote Kurve

In Abb. 49 ist erkennbar, dass PVAc unter den Gradientenbedingungen schmaler und höher eluiert. Vergleicht man die Peakflächen der beiden Standards in den verschiedenen Experimenten, so wird ein Zuwachs von 1,1 Flächen-% für das Gradientenexperiment im Vergleich zum LC-CC-Experiment gefunden werden. Dies ist auf die unterschiedlichen chromatographischen Bedingungen und die damit verbundenen Responsefaktoren zurückzuführen. Durch diese Verbesserung des Responsefaktors und die schmalere und höhere Peakform sollte eine Herabsetzung der Nachweisgrenze für PVAc möglich sein. Man erhält zudem bei der Fraktionierung des nun in einem schmalen Peak eluierenden PVAc-Anteils weniger Fraktionen mit einem vergleichsweise großen PVAc-Anteil. In Abb. 50 sind die Ergebnisse der 2D-Untersuchungen dreier Modellmischungen unter den neuen chromatographischen Bedingungen zu sehen.

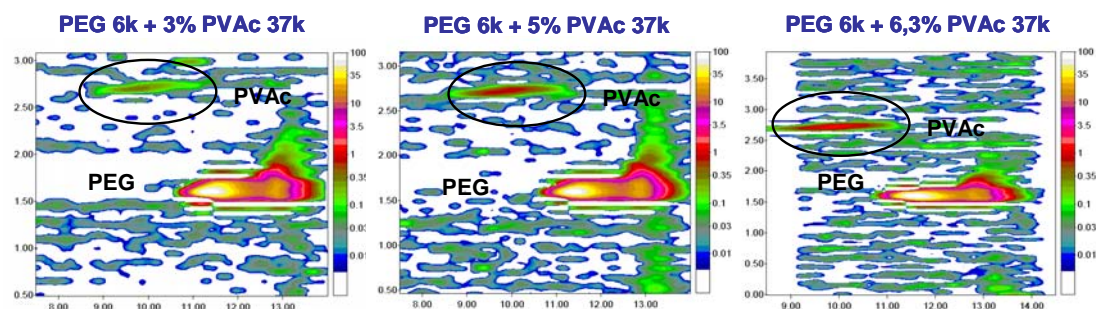


Abb. 50 2D-Konturplots von Modellmischungen von PEG 6k mit verschiedenen Mengen an PVAc 37k; 1. Dimension: Gradient aus Tab. 19, Flussrate: 0,057 ml/min, 2. Dimension: THF, Flussrate: 8 ml/min

Aus Abb. 50 geht eindeutig hervor, dass durch den Gradienten in der 1. Dimension eine Verbesserung der Nachweisgrenze von PVAc erreicht wird. Selbst eine kleine Menge von 3% des höhermolekularen PVAc 37k ist problemlos detektierbar. Trägt man die entsprechenden Volumina der Peaks aus dem 2D-Experiment gegen die injizierte Masse auf und vergleicht dies mit den entsprechenden Werten aus den 2D-Experimenten ohne Gradient in der 1. Dimension, so erhält man nachfolgendes Diagramm.

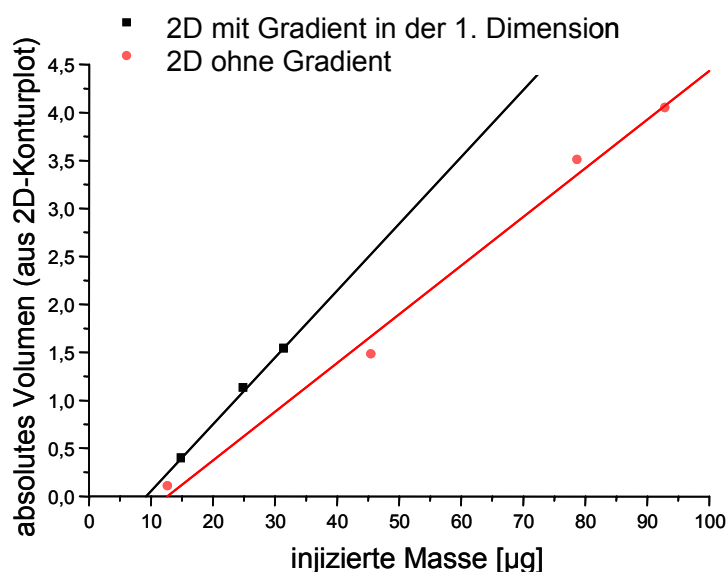


Abb. 51 Detektorkalibration für PVAc 37k mit und ohne Gradient in der 1. Dimension

In Abb. 51 ist erkennbar, dass die Kalibrationskurve von PVAc 37k durch Anlegen des Gradienten in der 1. Dimension steiler wird und leicht nach links verschoben wird, so dass der Schnittpunkt mit der x-Achse (Nachweisgrenze) zu kleineren Werten verschoben wird.

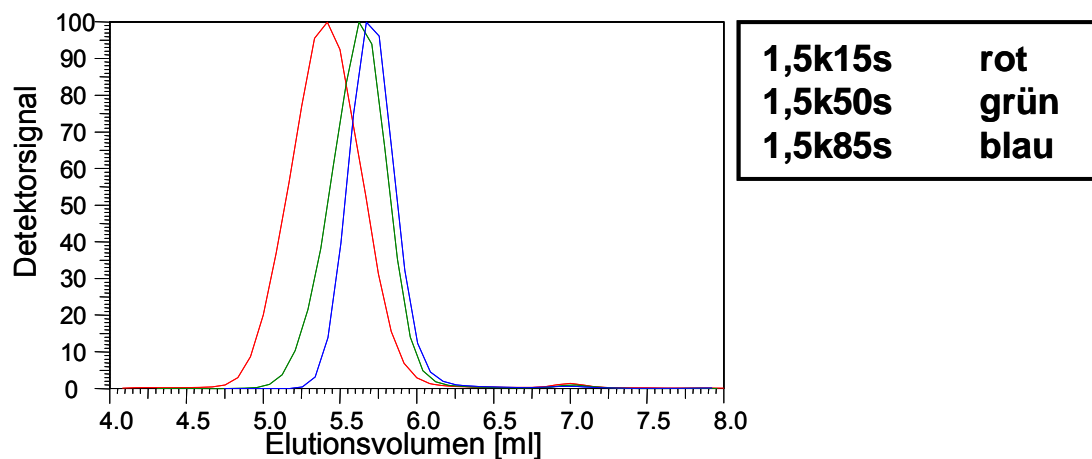
In Abb. 50 sieht man jedoch, dass der PEG-Bereich im Gegensatz zu Abb. 47 (2D-Experimente der Modellmischungen ohne Gradient in der 1. Dimension) deutlich breiter, sowohl in x- als auch in y-Richtung, eluiert. An dieser Stelle wäre eine weite Optimierung des Systems nötig, was im zeitlichen Rahmen und mit den zur Verfügung stehenden Geräten jedoch nicht möglich ist. Hierzu wäre eine Mikropumpe für die 1. Dimension notwendig, die das sorgfältige Mischen der jeweiligen Eluentzusammensetzung sicherstellt. Die bei den beschriebenen chromatographischen Experimenten eingesetzte HPLC-Anlage der Firma Agilent liefert bei niedrigen Flussraten, welche in der 1. Dimension eines 2D-Experiments nötig sind, keine optimalen Gradientenläufe. Die Tendenz ist allerdings klar erkennbar und für die momentane Fragestellung ausreichend.

4.5 Charakterisierung der PEG-g-PVOH-Copolymeren mittels SEC

Wie bereits beschrieben, werden die PEG-g-PVAc-Pfropfcopolymere durch Verseifung in die entsprechenden PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere überführt. Bei diesen Copolymeren handelt es sich um vollständig hydrophile Materialien, die in organischen Lösungsmitteln nicht löslich sind.

Zuerst sollen die Molekulargewichtsverteilungen der Copolymere mittels SEC bestimmt werden. Die verseiften Copolymere erfordern den Einsatz von Wasser als Eluent und werden deshalb (wie in vorherigem Kapitel beschrieben) auf der chromatographischen Trennsäule PL Rapid Aqua H (100 x 10 mm, Partikelgröße 8 µm) chromatographisch aufgetrennt. Diese Säule kann durch ihre Dimensionen und den damit verbundenen geringen Gegendruck bei Anlegen eines Eluentenflusses mit Flussraten bis zu 5 ml/min betrieben werden. Hierdurch ergibt sich wiederum die Möglichkeit der schnellen Chromatographie, was im Hinblick auf 2D-Experimente besonders wertvoll ist.

In Abb. 52 sind die Ergebnisse der SEC-Experimente für die PEG-g-PVOH-Copolymere zusammengestellt.



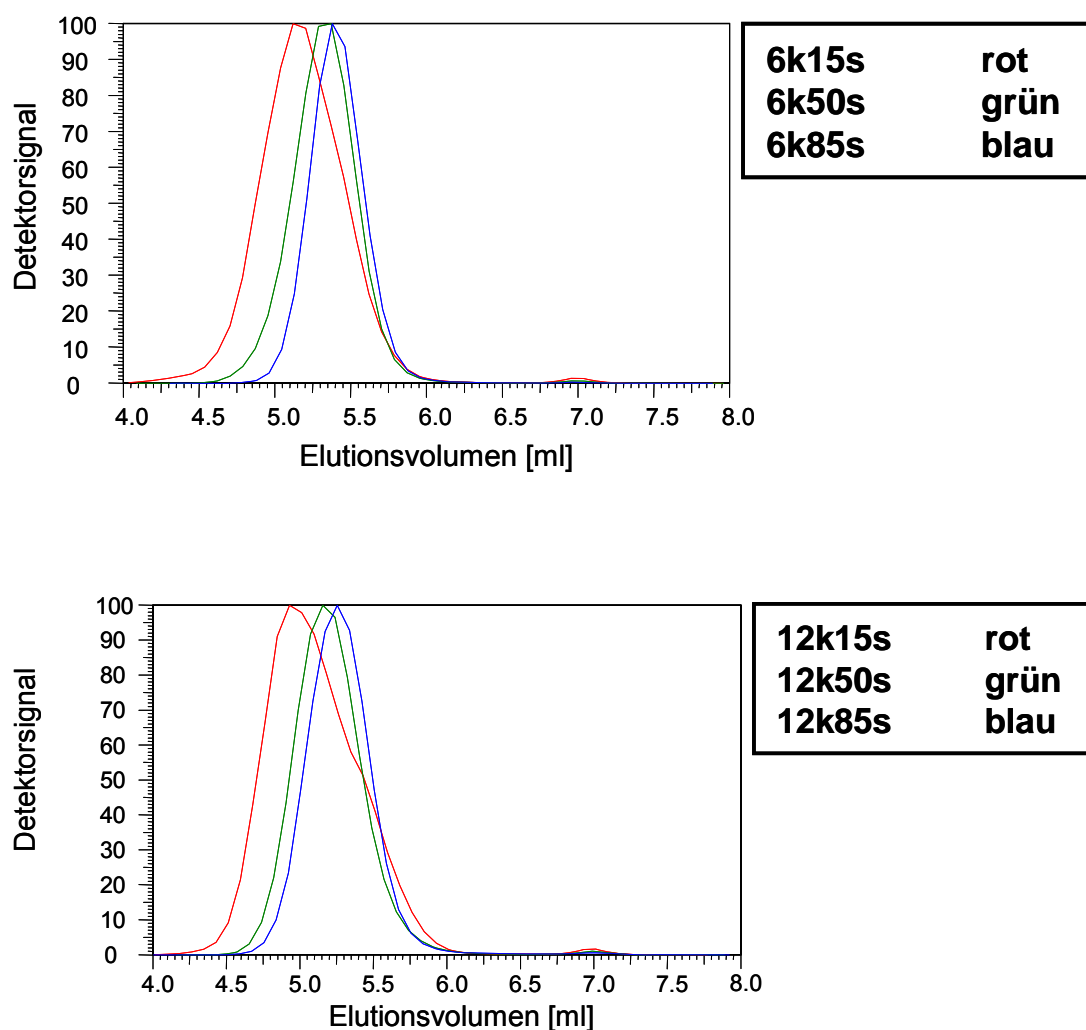


Abb. 52 Überlagerungen der SEC-Elugramme der PEG-g-PVOH-Copolymere

Im Gegensatz zu den SEC-Elugrammen der PEG-g-PVAc-Precursor-Polymere (Abb. 27) erhält man unter den hier gewählten wässrigen chromatographischen Bedingungen etwas schmalere Peaks für die Copolymere. Dies ist auf die verschiedenen eingesetzten Trennsäulen und die unterschiedlichen Eluentzusammensetzungen zurückzuführen.

Auch in diesem Fall wird beobachtet, dass das Molekulargewicht mit steigendem PVAc-Anteil bzw. hier dem verseiftem PVOH-Anteil deutlich zunimmt. Dies ist an der Verschiebung der Copolymerpeaks zu niedrigeren Elutionsvolumina zu erkennen. Die Kalibration wird für diese Polymere mit PEG-Standards durchgeführt, und die so zu erhaltenden Werte sind in Tab. 20 zusammengestellt.

Tab. 20 Molekulargewichte der PEG-g-PVOH-Propfcopolymere, ermittelt durch SEC

Probe	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	M_w/M_n
1,5k15s	4 800	9 700	2,0
1,5k50s	2 000	3 400	1,7
1,5k85s	1 300	1 800	1,4
6k15s	10 900	26 600	2,4
6k50s	8 200	12 500	1,5
6k85s	6 400	8 500	1,3
12k15s	12 200	36 000	2,9
12k50s	12 300	20 900	1,7
12k85s	10 200	16 100	1,6

Verglichen mit den Werten aus Tab. 13 kann man feststellen, dass unter den hier gewählten chromatographischen Bedingungen (Eluent: Wasser + 20 mmol/l NH_4Ac statt THF, Säule: PL Rapid Aqua H statt PSS SDV High Speed) die durch PEG-Kalibration bestimmten Molekulargewichtsmittelwerte deutlich geringer sind. Dies ist durch die Verringerung des Molekulargewichtes durch die Verseifung des PVAc zu PVOH zu erklären. Am Beispiel von Probe 6k50s soll dieser Molekulargewichtsverlust durch Verseifung berechnet und mit dem bestimmten Wert verglichen werden:

Das bestimmte gewichtsmittlere Molekulargewicht der entsprechenden PEG-g-PVAc-Probe wurde in Abschnitt 4.2 zu $M_w = 17.800$ g/mol bestimmt. Dieses ist zu gleichen Teilen auf PEG und PVAc aufzuteilen. Damit erhält man für beide Komponenten ein Gewicht von 8.900 g/mol. Für PEG ändert sich dieser Anteil nach der polymeranalogen Umsetzung nicht. Mit der Verseifung entsteht jedoch aus VAc (86 g/mol) Vinylalkohol VOH (44 g/mol), womit nur noch 51% des Ausgangsgewichtes gegeben ist. Damit errechnet sich für den PVOH-Anteil in Probe 6k50s ein Molekulargewicht von 4.540 g/mol, was dann mit dem PEG-Anteil zu einem Gesamtmolekulargewicht von 13.440 g/mol führt. Vergleicht man diesen berechneten Wert mit dem experimentell bestimmten Mittelwert (PEG-Kalibration) $M_w = 12.500$ g/mol, so findet man im Rahmen der Genauigkeit eine gute Übereinstimmung. Dies gilt auch für alle anderen Proben.

Die in Abschnitt 4.2 beschriebenen Effekte sind auch hier wieder zu finden: Mit zunehmendem Gewichtsanteil des eingesetzten VAc wird der Molekulargewichtszuwachs größer. Dem gegenüber nimmt mit Zunahme der Kettenlänge der PEG-Backbones (von 1,5k15s über 6k15s zu 12k15s) die Anzahl der Pfropfstellen ab.

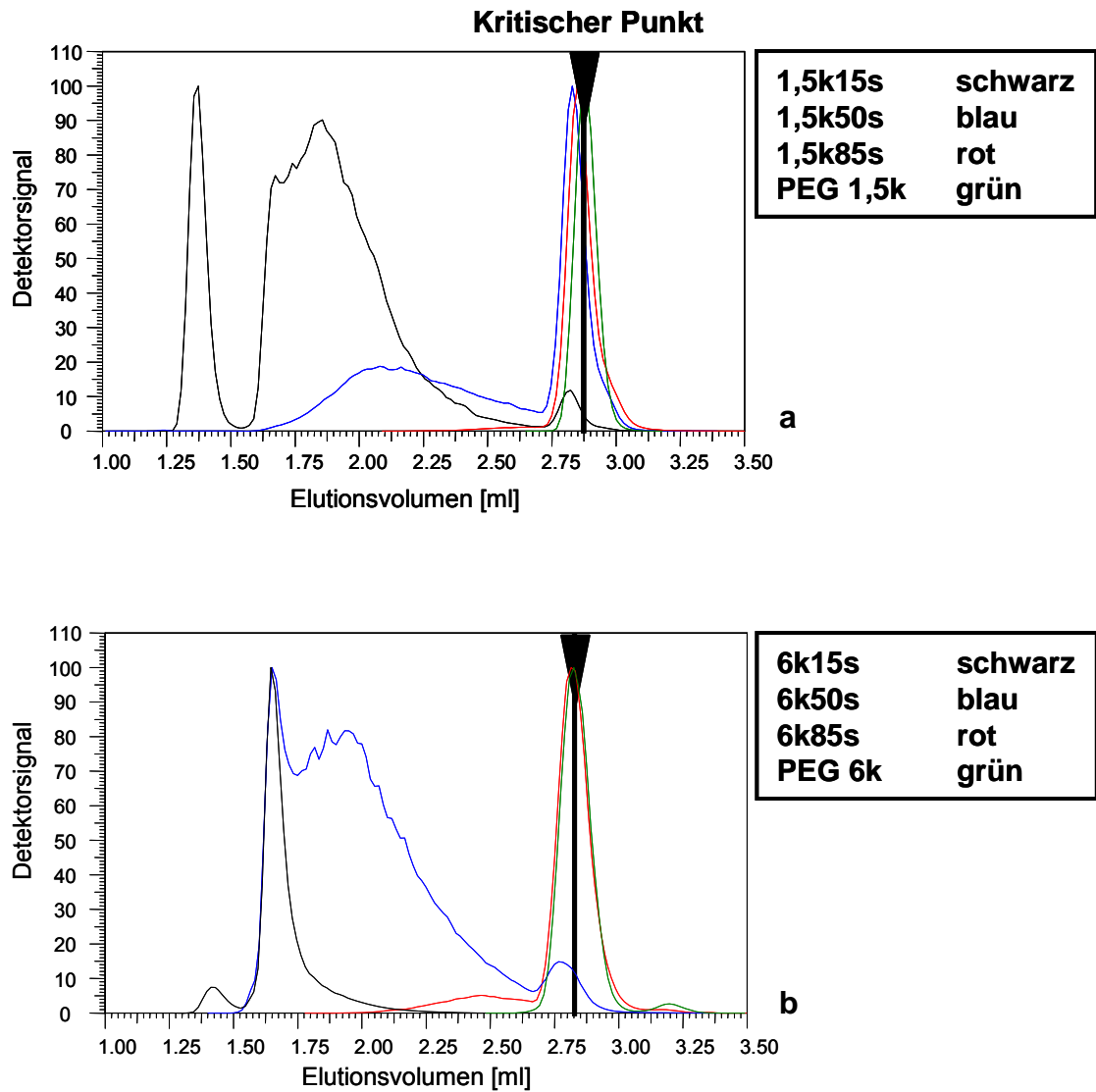
Auch die berechneten Werte für die Polydispersitäten sind fast um die Hälfte geringer als die entsprechenden Werte für die PEG-g-PVAc-Copolymere, welche durch PVAc-Kalibration ermittelt wurden. Diese Tatsache ist auf die unterschiedlichen chromatographischen Bedingungen und die damit verbundenen Unterschiede in der Detektion, sowie auf die unterschiedlichen Kalibrationen zurückzuführen, denn auch in diesem Fall liegen die Polydispersitäten der eingesetzten PEGs in der gleichen Größenordnung.

4.6 Charakterisierung der PEG-g-PVOH-Copolymere mittels LC-CC (PEG)

Bei der Verseifung der PEG-g-PVAc-Copolymere entstehen vollständig hydrophile PEG-g-PVOH-Copolymere, die nur noch in wässrigen Lösungsmitteln löslich sind. Neben der Verseifung der Copolymere erfolgt auch eine Verseifung des PVAc. Die Verseifungsprodukte enthalten also neben PEG-g-PVOH die Homopolymere PEG und PVOH. Im Folgenden soll nun der Anteil an PEG-Homopolymer bestimmt werden. Diese Bestimmung war für die PEG-g-PVAc-Proben aufgrund von Löslichkeitsproblemen nicht möglich. Die Auftrennung von PEG-g-PVOH und PEG sollte durch LC-CC möglich sein. Am kritischen Punkt der Adsorption für PEG sollten das Copolymer und PEG getrennt voneinander eluieren. Dabei ist jedoch zu erwarten, dass PVOH gemeinsam mit dem Copolymer eluiert.

Als chromatographische Trennsäule wird die M&N Nucleodur C18 Pyramid 5 μ (250 x 4,6 mm I.D.) eingesetzt. In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen wird als mobile Phase ein Gemisch aus Methanol und Wasser gewählt. Die genaue Eluentzusammensetzung des kritischen Punktes von PEG wird zu MeOH : Wasser 81 : 19 Vol.-% bestimmt. Die Säulentemperatur beträgt 35°C, und man arbeitet bei einer Flussrate von 1 ml/min.

Unter diesen chromatographischen Bedingungen werden alle Proben der drei Copolymereserien (aus PEG 1,5k, PEG 6k und PEG 12k) untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 53 zu sehen.



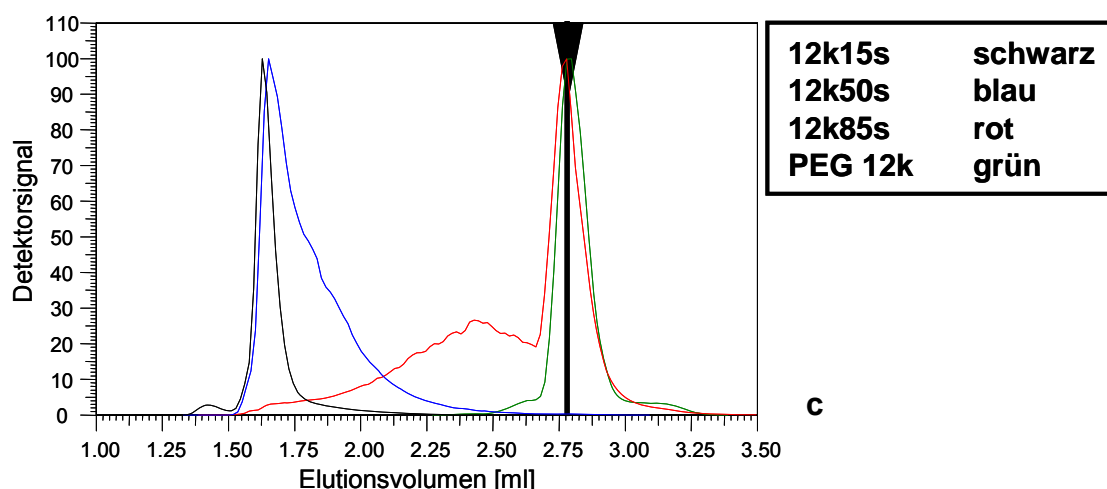


Abb. 53 LC-CC-Elugramme der PEG-g-PVOH-Proben, Säule: M&N NUCLEODUR PYRAMID, Eluent: MeOH : Wasser 81 : 19 Vol-%, Detektor: PL ELS 2100, Flussrate: 1 mL/min

Das LC-CC-Elugramm der Probe 1,5k15s in Abb. 53 weist drei gut voneinander getrennte Elutionspeaks bei 1,25 – 1,5 ml, 1,6 – 2,6 ml und bei ca. 2,85 ml auf. Der zuletzt eluierende Peak kann dem PEG zugeordnet werden. Die geringe Peakintensität zeigt, dass die vorliegende Probe nur wenig ungepfropftes PEG enthält. Bei dem breit eluierenden Peak im Bereich 1,6 – 2,6 ml handelt es sich um das PEG-g-PVOH-Copolymer. Die Peakbreite könnte darauf hindeuten, dass das Copolymer eine große Anzahl an Verknüpfungsstellen aufweist und so hinsichtlich der Kettenlänge des PVOH breit verteilt ist. Bei dem zuerst eluierenden Peak könnte es sich entweder um PVOH-Homopolymer oder um PVOH-reiches Copolymer handeln. In der unverseiften Probe wurde ein erheblicher Anteil an PVAc gefunden, der nun als PVOH vorliegen müsste.

Ein solcher Peak (bei 1,25 – 1,5 ml) wird in den Proben 1,5k50s und 1,5k85s nicht gefunden. Der Copolymerpeak in Probe 1,5k50s ist breiter verteilt (1,6 – 2,75 ml) als der entsprechende Peak in Probe 1,5k15s und ist vom PEG-Peak nicht mehr basisliniengetrennt. Das deutet darauf hin, dass weniger PVOH im Copolymer enthalten ist. Der PEG-Anteil steigt in den beiden Proben 1,5k50s und 1,5f85s stark an. Das Elugramm von Probe 1,5k85s unterscheidet sich nur noch minimal von dem des PEG.

Bei Probe 6k15s wird kein PEG gefunden. Der Anteil des PVOH-reichen Copolymers ist im Vergleich zur entsprechenden Probe 1,5k15s deutlich geringer und der Copolymerpeak ist wesentlich enger verteilt. In Probe 6k50s ist der Copolymerbereich wieder breiter verteilt und auch PEG zu finden.

Probe 6k85s zeigt wie auch Probe 1,5k85s ein ähnliches Elutionsverhalten wie PEG. Die Intensität des Copolymerpeaks bei 2 – 2,6 ml wird jedoch etwas höher.

In den Copolymerproben, die aus PEG 12k hergestellt wurden, werden ähnliche Ergebnisse gefunden, mit Ausnahme von Probe 12k50s. In dieser Probe ist kein PEG nachweisbar und auch der Copolymerbereich ist im Vergleich zu den Proben 1,5k15s und 6k15s enger verteilt.

In Probe 12k85s findet man im Gegensatz zu den Proben 1,5k85s und 6k85s, die die gleichen Gewichtsprozentanteile PEG aufweisen, einen Copolymerpeak mit höherer Intensität.

Die jeweiligen PEG-Anteile der Proben sind in Tab. 21 zusammengestellt.

Tab. 21 Quantifizierung der PEG-Anteile aus der LC-CC

Probe	Anteil PEG			
	Peakfläche [abs.]	Anteil [Fl.- %]	Anteil [mg]	Anteil [Gew.- %]
1,5k15s	$1,86 \cdot 10^{-3}$	2,45	0,011	18,3
1,5k50s	$4,00 \cdot 10^{-2}$	50,30	0,031	51,6
1,5k85s	$1,33 \cdot 10^{-1}$	97,73	0,080	~ 100
6k50s	$4,33 \cdot 10^{-3}$	5,18	0,012	20,0
6k85s	$1,06 \cdot 10^{-1}$	88,38	0,065	90,3
12k85s	$3,83 \cdot 10^{-2}$	53,74	0,037	61,7

Die Proben 1,5k15s, 1,5k50s, 1,5k85s, 6k50s und 6k85s wurden mit einer PEG 2010-Kalibration ausgewertet. Für die Quantifizierung des PEG-Anteils in Probe 12k85s wurde PEG 12k verwendet.

Es ist bekannt, dass LC-CC-Trennungen durch die gewählte Flussrate beeinflusst werden können. So kann eine Erhöhung oder Verringerung der Flussrate zu deutlich unterschiedlichen Trennungen führen. Die vorliegenden LC-CC-Untersuchungen werden mit einer Flussrate von 1 ml/min durch-

geführt. Diese muss bei 2D-Experimenten, bei denen die LC-CC in der 1. Dimension eingesetzt wird, auf unter 0,1 ml/min gesenkt werden.

Zur Untersuchung der Flussratenabhängigkeit wird Probe 12k15s (Abb. 53 c, schwarze Kurve) im Eluenten gelöst und bei schrittweiser Verminderung der Flussrate chromatographisch aufgetrennt. Die so erhaltenen Elugramme sind in Abb. 54 gezeigt.

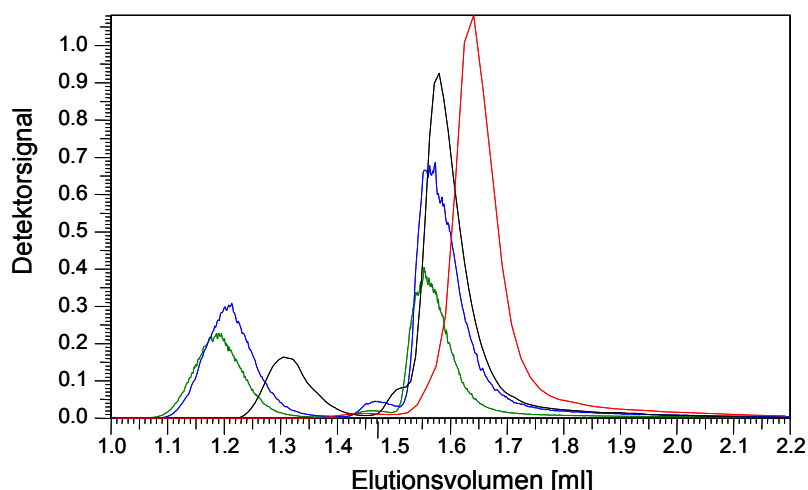


Abb. 54 Überlagerung der Elugramme der Probe 12k15s bei 1 ml/min (rot), bei 0,5 ml/min (schwarz), bei 0,1 ml/min (blau) und bei 0,05 ml/min (grün)

Abb. 54 zeigt, dass unter den chromatographischen Bedingungen der LC-CC (PEG) eine Abhängigkeit der Elution (Peakform und Elutionsvolumen) vorhanden ist. Bei einer Flussrate von 1 ml/min erhält man für 12k15s einen homogenen Peak. Der kleine Anteil, welcher in Abb. 53 c bei etwa 1,4 ml eluiert ist nach Überlagerung der Elugramme bei verschiedenen Flussraten kaum noch zu erkennen. Durch Verminderung der Flussrate auf 0,5 ml/min (schwarze Kurve in Abb. 54) wird die Elution dieses Anteils zu niedrigeren Volumina verschoben. Außerdem wird eine deutliche Vergrößerung dieses Peaks beobachtet. Auch der größere Anteil an Copolymer, der bei 1 ml/min noch bei einem Elutionsvolumen von 1,65 ml zu detektieren war, eluiert unter den neuen chromatographischen Bedingungen bereits bei einem Volumen von 1,6 ml. Eine weitere Reduzierung der Flussrate auf 0,1 ml/min führt zu einer weiteren Verschiebung des Elutionsvolumens des zuerst eluierenden Copolymeranteils (von 1,3 ml bei 0,5 ml/min auf 1,2 ml). Die Intensitäten der beiden Peaks verändern sich ebenfalls durch Herabsetzen der Flussrate.

Während die Intensität des Hauptpeaks mit fallender Flussrate abnimmt, kann für den kleineren Copolymeranteil eine stetige Steigerung der Intensität gefunden werden. Diese Abhängigkeit⁸⁸ kann dazu führen, dass sich die Ergebnisse eines 2D-Experimentes deutlich von den aus den LC-CC gewonnenen Erwartungen unterscheiden. Außerdem ist es möglich, dass die Lage des kritischen Punktes der Adsorption ebenfalls abhängig von der Flussrate des chromatographischen Systems ist. Ein weiterer Gedankengang ist, dass die bei einer Flussrate von 1 ml/min eingestellten kritischen Bedingungen bei höheren oder geringeren Flussraten nicht mehr die für die LC-CC nötigen Bedingungen erfüllen. Um diesen Flussrateneffekt weiter aufzuklären wird folgende Versuchsreihe durchgeführt:

Zuerst wird der kritische Punkt bei einer Flussrate von 1 ml/min neu eingestellt. Die chromatographischen Bedingungen sind wie folgt:

Säule M&N NUCLEODUR PYRAMID C18

Eluent MeOH/Wasser 80,7/19,3 Vol.-%

Temperatur 35°C

Die Eluentzusammensetzung wird durch die Pumpe vorgemischt. In diesem Eluenten werden drei PEG-Standards gelöst und chromatographisch untersucht. Dabei wird die Flussrate ausgehend von 1 ml/min bis zu 0,05 ml/min reduziert.

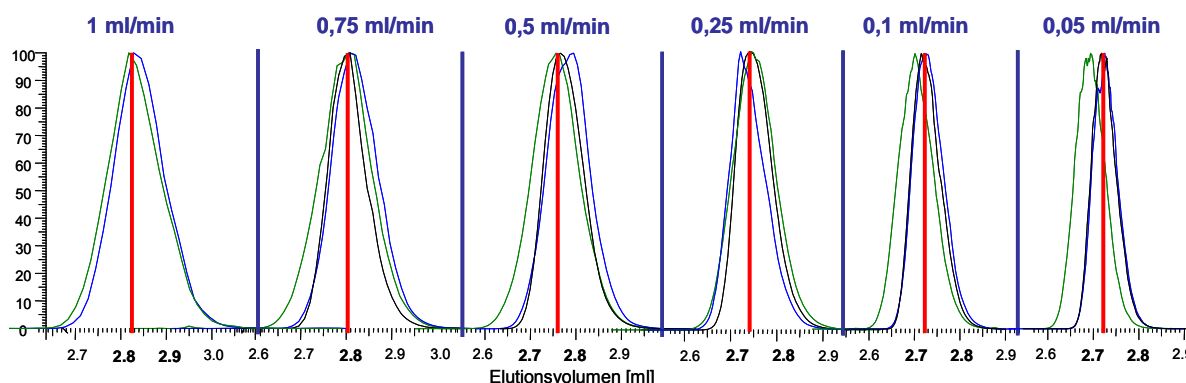


Abb. 55 Überlagerung der PEG-Elugramme bei unterschiedlichen Flussraten:
PEG 1500 schwarz, PEG 3930 blau und PEG 6430 grün

Wenn man annimmt, dass eine Überlagerung von mindestens zwei Standards dem „kritischen Bereich“ entspricht, dann sieht man in Abb. 55 sehr gut, dass sich dieser (mit roter Linie gekennzeichnete) Bereich von höheren Elutionsvolumina (2,82 ml bei 1 ml/min) zu niedrigeren Elutionsvolumina (2,72 ml bei 0,05 ml/min) verschiebt. Weiterhin fällt sofort auf, dass mit Verringerung der Flussrate die Peakbreite abnimmt. Es muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass mit der roten Linie zwar die Überlagerung zweier Peaks markiert wurde, was aber nicht den tatsächlichen kritischen Bedingungen von PEG entspricht. Der exakte kritische Punkt der Adsorption von PEG ist mit der Verminderung der Flussrate nicht gegeben.

Nach der Verringerung der Flussrate ausgehend von 1 ml/min soll auch der Umkehrfall, nämlich die Erhöhung der Flussrate ausgehend von 0,05 ml/min und deren Einfluss auf die kritischen Bedingungen untersucht werden. Dazu wird der kritische Punkt von PEG bei einer Flussrate von 0,05 ml/min bestimmt. Bei vorgemischtem Eluent wird dann die Flussrate schrittweise erhöht. Auch in diesem Fall kann eine Abhängigkeit der Elutionsvolumina mit Erhöhung der Flussrate gefunden werden. Das Elutionsvolumen des „kritischen Bereiches“ nimmt mit der Flussrate zu. Ein Vergleich der beiden Experimente (Erhöhung bzw. Verringerung der Flussrate nach Einstellung des kritischen Punktes von PEG) ist in Abb. 56 dargestellt.

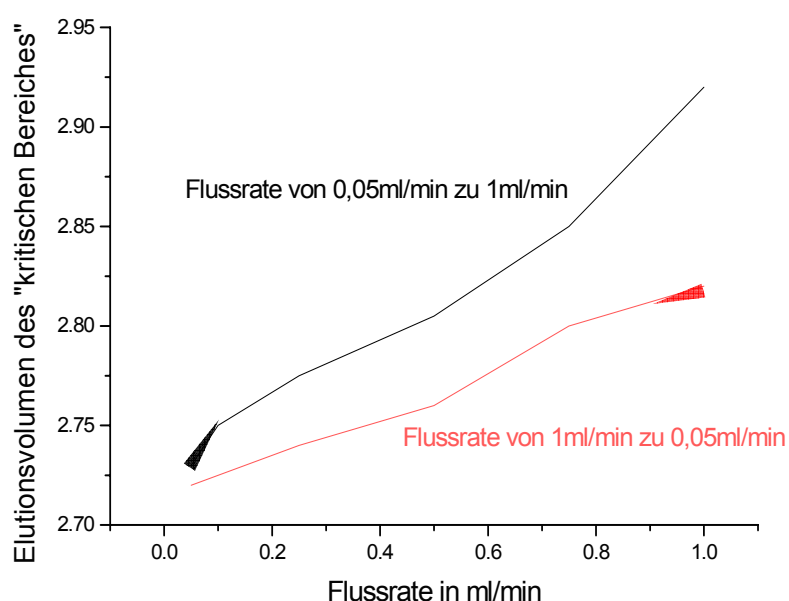


Abb. 56 Flussratenabhängigkeit des „kritischen Bereiches“ bei Erhöhung und Erniedrigung der Flussrate nach Einstellen der kritischen Bedingungen

In Abb. 56 sieht man deutlich, dass eine Abhängigkeit des „kritischen Bereiches“ von der Flussrate besteht. Vom kritischen Punkt der Adsorption darf man, wie oben bereits erwähnt nicht sprechen, da eine Überlagerung der Peaks aller PEG-Standards nicht mehr gegeben ist (Abb. 55).

Im Falle von Experiment 1 (Erniedrigung der Flussrate) eluiert PEG 6430 vor PEG 1500 und PEG 3930. Man befindet sich somit leicht im SEC-Modus, in dem große Moleküle bekanntlich vor den entsprechenden kleineren Molekülen eluieren. Im zweiten Experiment eluiert PEG 1500 vor den beiden anderen Standards, was im Umkehrschluss auf das Arbeiten im LAC-Modus schließen lassen würde. Verwunderlich ist jedoch, dass das Elutionsverhalten des kleinsten PEG-Standards abweicht. Im Normalfall würde man das Abweichen besonders großer Moleküle erwarten. Hiernach müssten PEG 1500 und PEG 3930 coeluieren und PEG 6430 später detektiert werden, was aber durch die beschriebenen Experimente nicht bestätigt wird.

Zusammenfassend muss festgehalten werden, dass man nach Einstellen des kritischen Punktes der Adsorption einer Polymerart und anschließender Verminderung der Flussrate nicht mehr von kritischen Bedingungen sprechen darf. Es stellt sich die Frage, bei welcher Flussrate der kritische Punkt der Adsorption gesucht werden sollte.

Die normale Vorgehensweise bei der Erstellung von chromatographischen Bedingungen für ein 2D-Experiment ist, dass man zuerst die Bedingungen für die 1. Dimension unter Standardbedingungen (d.h. 1 ml/min) optimiert. Anschließend wird die Flussrate so weit reduziert, wie es für die 2D-Chromatographie nötig ist. Es werden üblicherweise Flussraten von 50 – 100 $\mu\text{l}/\text{min}$ in der 1. Dimension eingesetzt. Es sollte somit für jedes System überprüft werden, wie stark abhängig die chromatographische Trennung von der Flussrate ist. Bei zu großen Veränderungen des Elutionsvolumens der vorhandenen Bestandteile muss möglicherweise der kritische Punkt der Adsorption für ein Polymer bei der entsprechend niedrigen Flussrate des 2D-Experiments eingestellt werden. Dies ist wiederum mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden. Im vorliegenden Fall wird zwar das Elutionsvolumen

der Bestandteile beeinflusst, nicht aber die Trennung, so dass keine gesonderte Optimierung der chromatographischen Bedingungen nötig ist.

Das zweite Ergebnis der beiden oben beschriebenen Experimente ist, dass die Peakbreite ebenfalls flussratenabhängig ist. Diese nimmt in beiden Fällen mit Erniedrigung der Flussrate ab, was bedeutet, dass die Peaks bei einer Flussrate von 1 ml/min am breitesten eluieren. Beim Arbeiten mit einer Flussrate von 0,05 ml/min erhält man deutlich schmalere Elutionspeaks. Diese Ergebnisse sind in Tab. 22 in Form von Zahlenwerten für die Peakbreite (an der Basislinie) und die Halbwertsbreite zusammengestellt.

Tab. 22 Auswertung der Peakbreiten bei der Untersuchung der Flussratenabhängigkeit für den kritischen Punkt der Adsorption von PEG

Flussrate [ml/min]	Flussratenerniedrigung (1 ml/min – 0,05 ml/min)		Flussratenerhöhung (0,05 ml/min – 1 ml/min)	
	Peakbreite [ml]	Halbwertsbreite [ml]	Peakbreite [ml]	Halbwertsbreite [ml]
1	0,360	0,11	0,360	0,12
0,75	0,320	0,10	0,360	0,10
0,5	0,295	0,09	0,320	0,10
0,25	0,300	0,09	0,250	0,08
0,1	0,220	0,07	0,215	0,07
0,05	0,190	0,06	0,180	0,06

Sowohl bei Flussratenerhöhung als auch bei Flussratenerniedrigung erhält man das gleiche Ergebnis, nämlich dass die Peakform der untersuchten PEG-Standards schmäler ist, wenn die Flussrate geringer ist. Nach Van Deemter⁸⁹ hängen die Flussgeschwindigkeit und die Trennleistung über folgende Effekte zusammen:

1. Eddy-Diffusion
2. Diffusion
3. Stoffaustausch

Die **Eddy-Diffusion** beschreibt die Ausbreitung eines Stoffes in einem strömenden Fluid durch turbulente Vermischung. Dieser Effekt ist auf die

Säulenpackung bzw. die verschiedenen Fließstrecken der Probe durch diese zurückzuführen und ist nahezu flussratenunabhängig. Die **Diffusion** tritt aufgrund von Konzentrationsgefällen innerhalb der Säule auf und kann durch Erhöhung der Flussgeschwindigkeit gering gehalten werden. Lediglich der Parameter „**Stoffaustausch**“ kann zur Erklärung des vorliegenden Effektes herangezogen werden. Dieser Parameter beschreibt den eigentlichen chromatographischen Effekt, nämlich den Stoffaustausch zwischen mobiler und stationärer Phase des chromatographischen Systems. Dieser Stoffaustausch benötigt einige Zeit und wird deshalb mit niedrigerer Flussrate stärker, d.h. die Peakbreite wird verringert.

4.7 2D-Chromatographie der PEG-g-PVOH-Copolymere

Nachdem auch für wasserlöslichen PEG-g-PVOH-Proben chromatographische Methoden entwickelt werden konnten, mit denen die Molekulargewichtsverteilung (SEC) bestimmt und PEG-Homopolymer vom entsprechenden Copolymeren abgetrennt werden konnte (LC-CC), soll die Informationstiefe durch Kopplung dieser beiden Methoden erhöht werden.

Im Gegensatz zur 2D-Chromatographie der PEG-g-PVAc-Copolymere, deren 1. Dimension die LC-CC von PVAc und die 2. Dimension die SEC in THF war, muss bei der 2D-Chromatographie der PEG-g-PVOH-Copolymere die LC-CC von PEG für die 1. Dimension und die wässrige SEC für die 2. Dimension gewählt werden. Die chromatographischen Bedingungen sind die folgenden:

1. Dimension:

Säule: M&N NUCLEODUR C18 PYRAMID, 5 μ , 250/4.6

Eluent: MeOH/Wasser 81/19

Temperatur: 35°C

Flussrate: 0,077 ml/min

Speicherschleifen: 100 μ l

2. Dimension:

Säule: PL Rapid Aqua H (100 x 10)

Eluent: Wasser + 20 mmol/l NH₄Ac

Temperatur: Raumtemperatur

Flussrate: 5 ml/min

Auch in diesem Fall sollen die Positionen der Homopolymere im Konturplot durch das 2D-Experiment einer Modellmischung bestimmt werden. Das Ergebnis hierzu ist in Abb. 57 zu sehen.

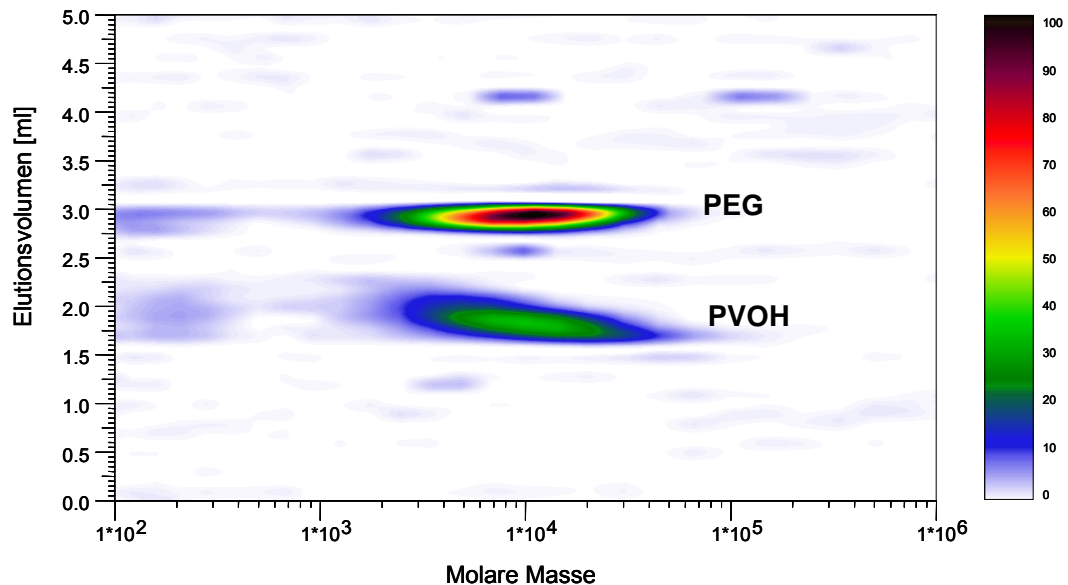


Abb. 57 2D-Konturplot der Modellmischung aus PEG 6430 und PVOH 8800 (1:1)

Durch den Einsatz einer unpolaren chromatographischen Trennsäule (M&N NUCLEOSIL C18) eluiert der polare PVOH vor dem PEG im SEC-Modus. PEG eluiert am kritischen Punkt der Adsorption, was in diesem Fall einem Elutionsvolumen von ca. 3 ml in der 1. Dimension entspricht. Damit kann eine sehr gute Trennung der beiden Homopolymere durch die gewählten chromatographischen Bedingungen erreicht werden. Die Copolymere sollten entsprechend ihrer Zusammensetzung zwischen den Homopolymeren PVOH und PEG eluieren.

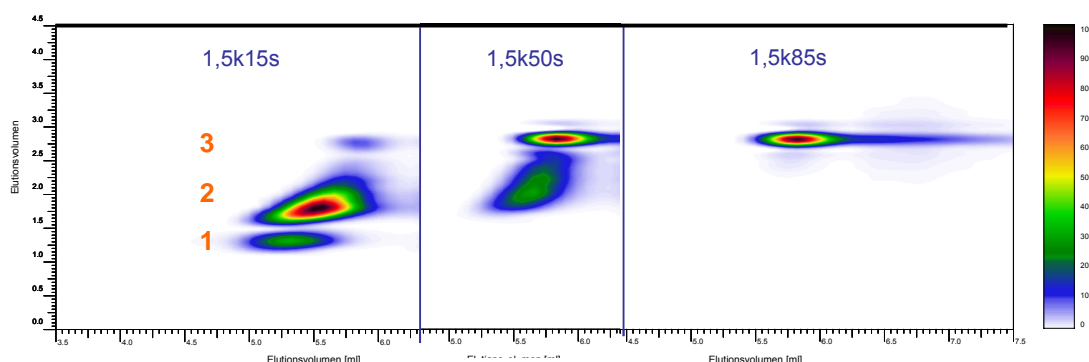


Abb. 58 2D-Konturplots der Proben aus PEG 1,5k: 1,5k15s, 1,5k50s und 1,5k85s; Flussrate in der 2. Dimension 5 ml/min (1. Dimension 0,077 ml/min), Zeitbedarf für ein 2D-Experiment: 75 Minuten

In Abb. 58 sind die 2D-Konturplots der Copolymere aus PEG 1,5k zu sehen. Wie aus den LC-CC-Experimenten zu erwarten, eluiert Probe 1,5k85s ähnlich wie reines PEG. Probe 1,5k50s eluiert bimodal, wobei der größere Anteil bei dem Elutionsvolumen des PEG-Hopolymeren eluiert. Der Konturplot von Probe 1,5k15s zeigt eine trimodale Verteilung, welche ebenfalls im entsprechenden LC-CC-Elugramm zu sehen war. Die Molekulargewichtsverteilungen (aus den Elutionsvolumina der 2. Dimension) liegen in ähnlichen Bereichen wie die der reinen SEC-Messungen, mit dem Unterschied, dass man durch die LC-CC in der 1. Dimension drei unterschiedliche Molekulargewichtsverteilungen erhält. Bei Probe 1,5k15s sind drei voneinander getrennte Bestandteile zu sehen, für die jeweils ein Molekulargewicht bestimmt werden kann. Im SEC-Experiment dagegen erhält man für diese Probe einen einzigen Peak.

Tab. 23 Auswertung der 2D-Konturplots (Abb. 58)

	1,5k15s	1,5k50s	1,5k85s
Peak 1			
Anteil [Vol.-%]	11,94		
Y [ml]	1,32		
X [ml]	5,32		
M _p [g/mol]	6.300		
Peak 2			
Anteil [Vol.-%]	61,84	38,36	2,22
Y [ml]	1,81	2,02	2,66
X [ml]	5,56	5,64	5,80
M _p [g/mol]	2.500	2.100	700
Peak 3			
Anteil [Vol.-%]	2,42	27,28	63,83
Y [ml]	2,77	2,81	2,81
X [ml]	5,82	5,83	5,81
M _p [g/mol]	620	600	690

Die drei Bereiche der Proben (Abb. 58) sind in Tab. 23 ausgewertet. Die Molekulargewichtsmittelwerte am Peakmaximum werden mit Hilfe einer PEG-Kalibration „per Hand“ bestimmt. Der „Schatten“ in den 2D-Konturplots, der an dieser Stelle nicht erklärt werden kann, wird nicht in die Auswertung mit einbezogen.

In Abb. 58 und Tab. 23 kann man sehen, dass die Intensität von Peak 2 mit zunehmendem PVAc/PVOH-Anteil abnimmt. Peak 1 ist nur in Probe 1,5k15s zu finden, was sehr gut mit den Ergebnissen aus der LC-CC übereinstimmt.

Am Elutionsvolumen von Peak 2 kann man von Probe 1,5k15s zu 1,5k85s eine Verschiebung zu höheren Volumina erkennen. Die Proben verhalten sich mit steigendem PEG-Anteil im Polymer dem PEG ähnlicher.

Die 2D-Konturplots der Copolymere aus PEG 6k sind in Abb. 59 nebeneinander dargestellt.

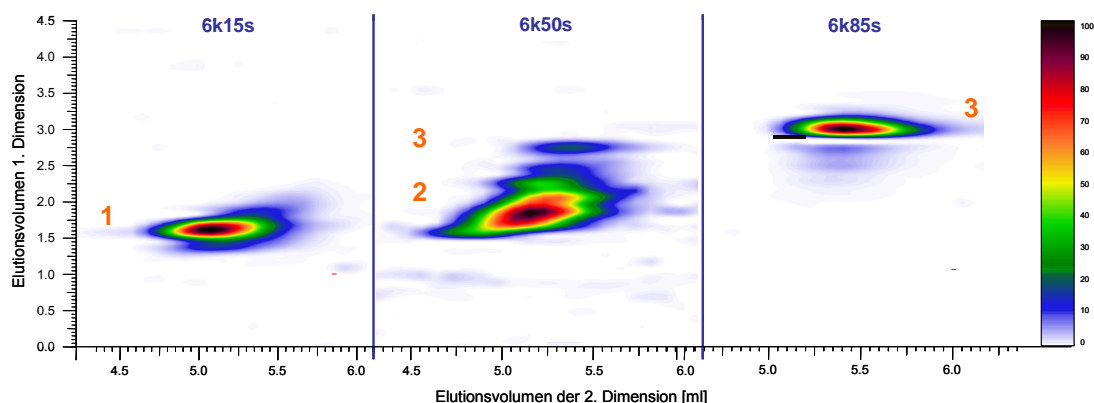


Abb. 59 2D-Konturplots der PEG-g-PVOH-Copolymerproben aus PEG 6k

Auch bei der Betrachtung von Abb. 59 sieht man deutliche Unterschiede der Copolymere, die aus PEG 6k hergestellt wurden. In Probe 6k15s ist kein PEG nachweisbar. Diese Probe eluiert homogen bei sehr niedrigen Elutionsvolumina in der 1. und 2. Dimension. Mit zunehmendem PEG-Gehalt verschiebt sich die Elution des Copolymeren in Richtung des PEG-Peaks (ca. 3 ml in der 1. Dimension). Probe 6k85s coeluiert mit PEG. Man beobachtet für Probe 6k50s die breiteste Molekulargewichtsverteilung des Copolymerpeaks. Dies kann aus den Elutionsvolumina der 2. Dimension (x-Achse) abgelesen werden. Während die Copolymere 6k15s und 6k85s etwa 1 ml breit eluieren, kann man für Probe 6k50s von Beginn der Elution des Copolymers bis zum Ende ein Volumen von fast 1,5 ml ablesen. Die Auswertung der 2D-Konturplots aus Abb. 60 ist in Tab. 24 zu sehen.

Tab. 24 Auswertung der 2D-Konturplots (Abb. 59)

	6k15s	6k50s	6k85s
Peak 1			
Anteil [Vol.-%]	83,57		
Y [ml]	1,78		
X [ml]	5,05		
M _p [g/mol]	17.400		
Peak 2			
Anteil [Vol.-%]		56,6	7,80
Y [ml]		2,03	2,97
X [ml]		5,15	5,40
M _p [g/mol]		13.200	4.800
Peak 3			
Anteil [Vol.-%]		3,68	59,31
Y [ml]		3,02	3,28
X [ml]		5,40	5,40
M _p [g/mol]		4.700	4.800

Die Bestimmung der Molekulargewichtsmittelwerte am Peakmaximum wird auch hier durch PEG-Kalibration „per Hand“ durchgeführt.

In Probe 6k50s wird ein kleiner PEG-Anteil gefunden. Der Hauptbestandteil dieser Probe ist jedoch das Copolymer (~ 57 Vol.-%). In Probe 6k85s kehren sich diese Intensitätsverhältnisse um, was durch den höheren PEG-Anteil im Copolymer zu erklären ist. Wie auch Probe 1,5k85s unterscheidet sich Probe 6k85s kaum noch von PEG.

Die 2D-Konturplots der Copolymere, die aus PEG 12k hergestellt wurden, sind in Abb. 60 nebeneinander dargestellt.

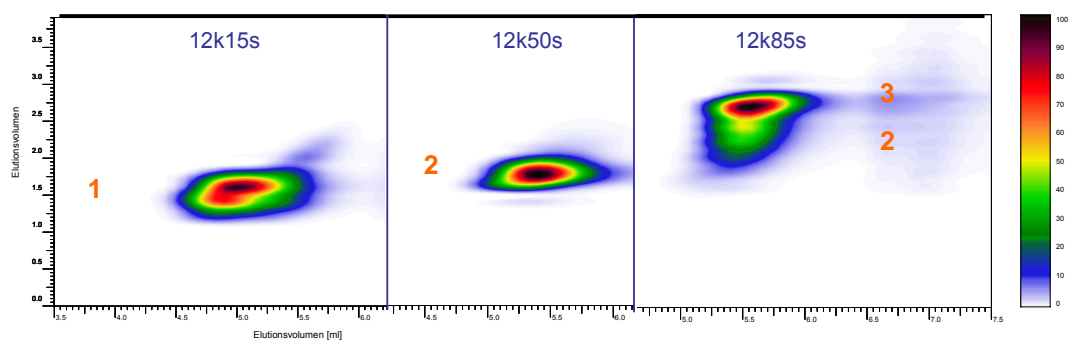


Abb. 60 2D-Konturplots der PEG-g-PVOH-Copolymerproben aus PEG 12k

Wie aus Abb. 60 hervorgeht, erhält man für Probe 12k50s einen homogenen Peak, während Probe 12k85s ein leichtes Tailing zu kleineren Elutionsvolumina in der 1. Dimension aufweist. Probe 12k15s eluiert in der 1. Dimension etwas breiter verteilt als die entsprechende Probe 6k15s.

Tab. 25 Auswertung der 2D-Konturplots (Abb. 60)

	12k15s	12k50s	12k85s
Peak 1			
Anteil [Vol.-%]	89,549		
Y [ml]	1,61		
X [ml]	4,99		
M _p [g/mol]	26.500		
Peak 2			
Anteil [Vol.-%]		88,96	34,24
Y [ml]		1,78	2,42
X [ml]		5,40	5,50
M _p [g/mol]		4.800	3.100
Peak 3			
Anteil [Vol.-%]			47,33
Y [ml]			2,69
X [ml]			5,56
M _p [g/mol]			2.500

Vergleicht man die aus der 2D-Chromatographie bestimmten Molekulargewichtsmittelwerte, so ist festzustellen, dass diese geringer sind im Vergleich zu den SEC-Experimenten der entsprechenden Proben. Die Auswertung der 2D-Konturplots der Proben 6k85s, 12k50s und 12k85s liefert zu kleine Werte für M_p. Dieser Effekt und ebenso der auftretende „Schatten“ in den 2D-Konturplots zeigen, dass eine weitere Optimierung des Systems nötig wäre. Diese konnte jedoch im Zeitrahmen der vorliegenden Arbeit nicht mehr durchgeführt werden.

Durch die 2D-Konturplots findet man jedoch für alle drei Probenserien deutliche Unterschiede der jeweiligen Proben. Man findet in den Proben 1,5k15s, 1,5k50s und 6k50s die breitesten Verteilungen in der 1. Dimension. Diese deutet darauf hin, dass der relativ kurze PEG-Backbone viele Verknüpfungsstellen aufweist, und man somit zu einer breiteren Kettenlängenverteilung des PVAc kommt.

Die 2D-Experimente, die in diesem Kapitel beschrieben sind, können innerhalb von 75 Minuten durchgeführt werden. Dies ist auf die Wahl der stationären Phase und der Säulendimensionen der SEC (2. Dimension), den Einsatz von 100 µl- Speicherschleifen und die schnelle Flussrate in der 2. Dimension zurückzuführen. Ein derartig geringer zeitlicher Aufwand für ein 2D-Experiment könnte dazu führen, dass diese chromatographische Methode in naher Zukunft auch außerhalb von Forschungsinstituten eingesetzt wird.

5. Experimenteller Teil

5.1 Chemikalien

5.1.1 Lösungsmittel und Salze für die Chromatographie

- Wasser (H_2O) in Reinstwasserqualität (Leitfähigkeit: $0,05 \mu\text{S}/\text{cm}$) durch Entsalzung (Millipore Simplicity 185, Millipore, Bedford, Massachusetts, USA)
- Methanol (MeOH) für die HPLC VWR CHROMANORM (VWR, Darmstadt, Deutschland)
- Tetrahydrofuran (THF) nach Destillation und Trocknung des technischen Produktes
- Essigsäure (AcOH) 99,8% chemisch rein (Wacker, Burghausen, Deutschland)
- Ammoniumacetat (NH_4Ac) für die Analyse (Acros Organics, Geel, Belgien)

5.1.2 Polymerstandards

Die zur Bestimmung der kritischen Bedingungen und zur Durchführung von Kalibrierungen benötigten eng verteilten Polymerstandards wurden von Polymer Standards Service GmbH (PSS, Mainz, Deutschland) und Polymer Laboratories (PL, Church Stretton, England) bezogen. Eingesetzt wurden die Polyethylenglykol- (PEG-) Standards von PSS und PL, Polyvinylalkohol- (PVOH-) Standards von PSS, Polyacrylsäure-Natriumsalz- (PAS-) Standards von PSS und Polyvinylacetat- (PVAc-) Standards von PSS.

5.1.3 Copolymere

Alle Copolymerproben wurden von der BASF Aktiengesellschaft sowie der Degussa AG hergestellt.

5.2 Chromatographische Systeme

Die Datenaufnahme, sowie die Auswertung und Generierung der Elugramme bzw. Konturplots erfolgte durch Einsatz der Software WinGPC der Firma Polymer Standards Service GmbH (PSS, Mainz, Deutschland).

5.2.1 LC-CC

Für alle Experimente zur Chromatographie am kritischen Punkt (PEG und PVAc, eindimensional und zweidimensional) wurde eine HPLC-Anlage des Typs Agilent 1100 Series eingesetzt. Diese besteht aus einer quarternären Pumpe (G 1311A), einem Entgaser (G 1379A), einem Autosampler (G 1313A) und einem Säulenofen (G 1318A). Als Detektor wurde der verdampfende Lichtstreuendetektor ELS 2100 der Firma Polymer Laboratories (PL, Church Stretton, England) eingesetzt.

Chromatographische Trennsäulen waren abhängig vom System eine M&N NUCLEODUR C18 Pyramid 5 μ (250 x 4,6 mm) sowie einige M&N NUCLEOSIL 100 – 5 C18 (250 x 4,6 mm).

Die Probenvorbereitung wurde systemabhängig durchgeführt. In der Regel wurden für ein eindimensionales Experiment 3 mg Standards bzw. 5 mg Probe in 1 ml Eluent (vorgemischt durch HPLC-Pumpe) gelöst. Von diesen Probelösungen wurden gewöhnlich 20 μ l der Probelösung injiziert.

Für ein 2D-Experiment wurden Probelösungen der Konzentration 20 mg/ml im Eluenten der ersten Dimension angesetzt, von denen dann 40 – 50 μ l auf die chromatographische Trennsäule injiziert wurden.

5.2.2 Gradientenchromatographie

Zur Durchführung der Gradientenchromatographie wurde die oben beschriebene HPLC-Anlage der Firma Agilent eingesetzt. Als chromatographische Trennsäule wurde die PLRP-S 100 Å, 5 μ m (150 x 4.6 mm) eingesetzt. Die Proben werden im Starteluenten (5 mg/ml) gelöst und es werden jeweils 30 μ l injiziert.

5.2.3 SEC

Die Größenausschlusschromatographie in THF erfolgte über eine HPLC-Pumpe Sun Flow 100 der Firma Sun Chrom (Friedrichsdorf, Deutschland). Als chromatographische Trennsäule wurde eine SDV 10⁴ High Speed (50 x 20 mm) der Firma Polymer Standards Service GmbH (PSS, Mainz, Deutschland) eingesetzt. Für die Kalibrationen wurden 50 – 100 µl der Standardlösungen (Konzentration 3 mg/ml) injiziert.

Die wässrige Größenausschlusschromatographie erfolgte ebenfalls über die HPLC-Pumpe Sun Flow 100 der Firma Sun Chrom. Der Eluent war Wasser mit 20 mmol/l NH₄Ac. Für die Kalibrationen wurden wie oben bereits beschrieben ebenfalls 50 – 100 µl der Standardlösungen (Konzentration: 3 mg/ml) injiziert.

5.2.4 2D-Chromatographie

Für die Kombination der LC-CC (PEG oder PVAc) mit der SEC (wässrig oder in THF) wurde die HPLC-Anlage der Firma Agilent (1100 Series), bestehend aus quaternärer Pumpe, Entgaser, Autosampler und Säulenofen) und die HPLC-Pumpe Sun Flow 100 der Firma Sun Chrom über ein Acht-Port-Schaltventil der Firma VICI Valco (Schenkon, Schweiz) gekoppelt. Die Probenschleifen wurden je nach Anwendung zwischen 50 µl und 100 µl variiert. Als Detektor wurde wiederum der verdampfende Lichtstreuendetektor ELS 2100 der Firma PL eingesetzt.

5.3 Detektion

Bei allen chromatographischen Untersuchungen wird ein verdampfender Lichtstreuendetektor (Evaporative Light Scattering Detector, ELSD) eingesetzt.

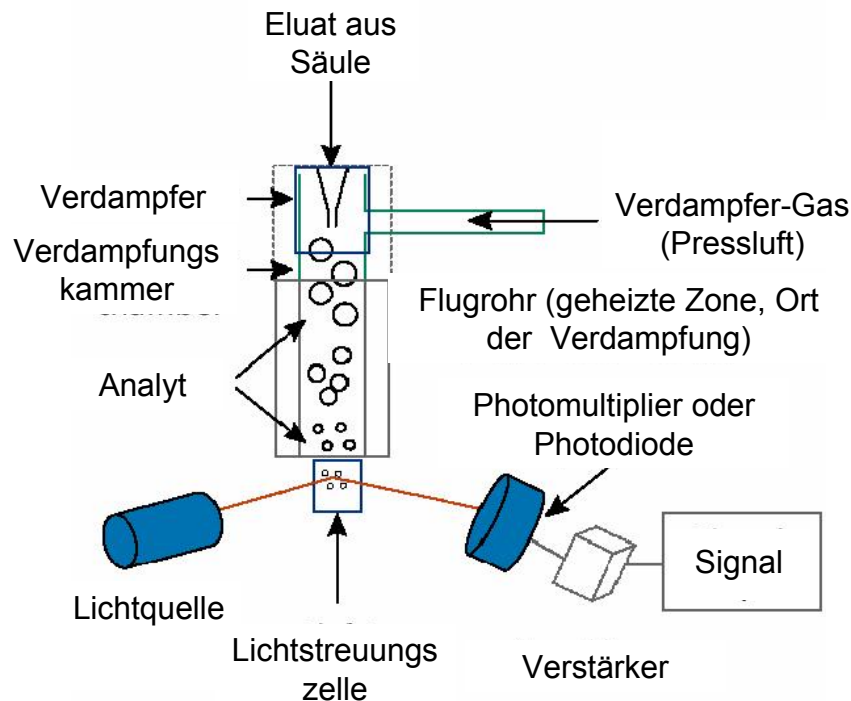


Abb. 61 Funktionsweise eines Evaporative Light Scattering Detector, ELSD

In Abb. 61 ist die Funktionsweise⁷⁴⁻⁷⁶ eines solchen ELSD gezeigt. Das Eluat aus der chromatographischen Trennsäule wird mit dem Verdampfer-Gas (hier: Pressluft) vermischt und in das geheizte Flugrohr geleitet. Dort wird das Lösungsmittel verdampft, so dass am Ende des Rohres idealerweise feste Partikel in einer Zelle mittels Lichtstreuung detektiert werden. Je nach Art der Probe und des Lösungsmittels ist in vielen Fällen eine vollständige Verdampfung des Lösungsmittels nicht möglich. Es gelangen Aerosole in die Lichtstreu-zelle, welche im Vergleich zu den entsprechenden festen Partikeln andere Signalintensitäten liefern⁷⁷⁻⁷⁹. Demzufolge erhält man bei jedem System spezifische Signalintensitäten, die jeweils kalibriert werden müssen. Bei einer Kalibrierung des Detektors werden 3 Lösungen des entsprechenden Polymeren mit verschiedenen Konzentrationen (3, 5 und 10 mg/ml) hergestellt. Von diesen Lösungen werden dann unterschiedliche Volumina (5, 10, 20, 30, 40 und 50 μ l) auf die chromatographische Trennsäule injiziert. Durch Auftragung der Peakflächen gegen die injizierten Massen erhält man die Kalibrationskurve.

6. Zusammenfassung

Obwohl die Anwendungsgebiete von hydrophilen Copolymeren außerordentlich vielseitig sind, stehen für die Charakterisierung der molekularen Struktur dieser Materialien keine ausreichend leistungsfähigen Analysenmethoden zur Verfügung. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, mehrdimensionale chromatographische Methoden für hydrophile Copolymere zu entwickeln, die eine umfassende und schnelle Charakterisierung dieser Polymere ermöglichen. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen war die Methodenentwicklung für Copolymere auf der Basis von Polyethylenglykol (PEG) und Acrylsäure (AS), die in der Bauchemie in Form von Fließverbesserern für Beton eingesetzt werden. Ein weiterer Schwerpunkt bestand in der Erarbeitung von Analysenverfahren für PEG-g-PVOH-Pfropfcopolymere, die als Tablettencoatings in der Pharmaindustrie Anwendung finden. Bei beiden Polymerklassen werden die Anwendungseigenschaften entscheidend durch das Zusammenspiel von Molekulargewichtsverteilung und chemischer Zusammensetzung geprägt. Es war deshalb das Ziel der Arbeiten, mehrdimensionale chromatographische Methoden zur Bestimmung dieser Parameter zu erarbeiten. In ausgewählten Fällen sollten die über die mehrdimensionale Chromatographie erhaltenen Strukturinformationen mit den entsprechenden Anwendungseigenschaften korreliert werden.

Die Ergebnisse der Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

(1) Copolymere auf der Basis von Ethylenglykol und Acrylsäure lassen sich durch Copolymerisation eines PEG-Makromonomers mit Acrylsäure und ggf. weiteren Monomeren herstellen. Im vorliegenden Fall wurde als drittes Monomer Hydroxypropylacrylat (HPA) eingesetzt. Das Makromonomer selbst ist chemisch heterogen und weist eine Molekulargewichtsverteilung auf. Zur Charakterisierung des Makromonomers wurde eine chromatographische Methode entwickelt, die es gestattet, die bei der Makromonomersynthese auftretenden Nebenprodukte abzutrennen und zu analysieren. Durch

Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LC-CC) gelang es, die Nebenprodukte PEG, PEG-Monomethylether und PEG-Dimethylether molekulargewichtsunabhängig vom Makromonomer abzutrennen. Die Identifizierung der Nebenprodukte erfolgte über MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Die Quantifizierung der Nebenprodukte konnte nach entsprechender Massenkalkulation anhand des ELSD-Detektorsignals durchgeführt werden. Mit der vorliegenden Methode lässt sich die Qualität kommerzieller Makromonomere schnell und präzise bewerten. Die erforderliche Analysenzeit liegt im Bereich weniger Minuten.

(2) Die Methodenentwicklung für die komplexen Copolymere erfolgte in zwei Schritten: zuerst wurden chromatographische Verfahren für binäre PEG-Acrylsäure-Copolymere erarbeitet, die nachfolgend auf die ternären PEG-HPA-Acrylsäure-Copolymere angepasst und erweitert wurden. Die Bestimmung der Molekulargewichtsverteilungen erfolgte durch wässrige SEC. Optimale Trennbedingungen wurden bei Verwendung einer hydrophil funktionalisierten stationären Phase auf der Basis von Polystyrol-Divinylbenzol (PL Rapid Aqua) und Wasser als mobiler Phase erzielt. Zur Unterdrückung von unerwünschten elektrostatischen Wechselwirkungen wurde dem Wasser Ammoniumacetat als Elektrolyt zugefügt. Die Kalibration der SEC erfolgte mit PEG. Durch LC-CC war es möglich, die reinen Copolymere von Nebenprodukten und Edukten abzutrennen. Die Chromatographie erfolgte unter kritischen Bedingungen für PEG in Methanol-Wasser als mobiler Phase; als stationäre Phase wurde Kieselgel RP-18 verwendet. Über entsprechende Kalibrationen konnten die Anteile an Nebenprodukt bestimmt werden. Das Elutionsverhalten der Copolymerfraktion lieferte erste Hinweise auf die chemische Heterogenität. Sowohl die SEC als auch die LC-CC zeigte an, dass sich eine Probe (Probe 228) deutlich von den anderen Proben unterschied. Diese Probe wies eine höhere Polydispersität sowohl bezüglich der Molekulargewichtsverteilung als auch der chemischen Zusammensetzung auf.

(3) Im nächsten Abschnitt der Untersuchungen wurden die ternären PEG-HPA-Acrylsäure-Copolymere bezüglich ihrer molekularen Heterogenität

untersucht. Auch hier wurde zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung die wässrige SEC genutzt. Für alle Proben wurden bimodale Verteilungen gefunden, die darauf zurückzuführen sind, dass die Proben niedermolekulare Nebenprodukte enthalten. Dabei handelt es sich um Hydrolyseprodukte des eingesetzten Makromonomeren. Diese Nebenprodukte ließen sich auch durch LC-CC nachweisen. Nach der notwendigen Detektorkalibration wurden die Anteile der Nebenprodukte quantifiziert, wobei sich zeigte, dass unterschiedliche Synthesestrategien zu deutlich verschiedenen Nebenproduktanteilen führten. Als weiteres Nebenprodukt wurde Polyacrylsäure (PAS) in den Proben vermutet. Diese ließ sich durch SEC oder LC-CC jedoch nicht von den anderen Komponenten abtrennen. Es wurde deshalb eine Methode der Gradienten-HPLC erarbeitet, mit der diese Trennung realisiert werden konnte. Mit dieser Methoden lässt sich PAS bis hin zu Konzentrationen von $< 0,1$ Gew.-% nachweisen. Die Untersuchung der Copolymerproben ergab, dass die binären Copolymere keine PAS aufwiesen. Bei den Terpolymeren wurden lediglich in zwei Proben geringe Mengen an PAS nachgewiesen. Mit Hilfe der entwickelten chromatographischen Methoden gelang es, den Polymerisationsverlauf quantitativ zu verfolgen. Damit steht nunmehr ein Instrumentarium zur Verfügung, mit dem unterschiedliche Polymerisationsverfahren studiert werden können.

(4) Zur Bestimmung des Zusammenhangs zwischen chemischer Heterogenität und Molekulargewichtsverteilung wurde eine Methode der 2D-Chromatographie für die binären und ternären Copolymere entwickelt. Dabei wurde die Trennung nach chemischer Zusammensetzung (LC-CC) in der 1. Dimension gewählt, die mit der entwickelten SEC-Methode gekoppelt wurde. Damit war es zum einen möglich, Nebenprodukte und Copolymere voneinander zu trennen. Zum anderen wurden die zur chemischen Verteilung der Copolymere korrelierenden Molekulargewichtsverteilungen erhalten. Die 2D-Chromatographie ermöglichte es, deutliche Unterschiede zwischen den Proben festzustellen. Während in den 2D-Konturplots der binären Copolymere Unterschiede im Nebenproduktanteil und kleinere Unterschiede in der Intensitätsverteilung des binären Copolymerbereichs zu finden waren, konnten bei den ternären Copolymeren weitaus größere Unterschiede

gefunden werden. Eine Probe (Probe 16) wies eine besonders große Heterogenität auf. Demgegenüber waren andere Proben (Proben 13, 14 und 15) besonders homogen.

(5) Das Ziel der chromatographischen Charakterisierung der beiden Copolymererien war es, Struktur-Eigenschaftsbeziehungen aufzustellen. Dazu wurden die chromatographisch gefundenen Unterschiede der Proben mit Experimenten aus Anwendungstests verglichen. Bei diesen Tests wird das Abbindeverhalten von Beton nach Zusatz der Copolymere analysiert. Bei den binären Copolymeren wies Probe 228 die schlechtesten Anwendungseigenschaften auf. Aus den vorherigen chromatographischen Experimenten wurden für diese Probe eine breitere Molekulargewichtsverteilung sowie ein größerer Nebenproduktanteil gefunden. Im Falle der ternären Copolymere hob sich Probe 16 durch besonders schlechte Anwendungstests von den anderen Proben ab. Mittels 2D-Chromatographie wurde für Probe 16 eine besonders große Heterogenität gefunden. Durch die Korrelation der chromatographischen Ergebnisse mit den Anwendungstests der beiden Copolymererien konnten folgende Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur der Proben und den Eigenschaften gefunden werden:

- Eine breite Molekulargewichtsverteilung des Copolymeren führt zu schlechten Anwendungseigenschaften.
- Große Anteile an Nebenprodukten (Hydrolyseprodukte des Makromonomers, PAS) haben einen negativen Einfluss auf die Eigenschaften.
- Eine große chemische Heterogenität der Copolymere (aus 2D-Chromatographie) führt zu negativen Ergebnissen in den Anwendungstests.

(6) Bei der Pfropfreaktion von VAc auf PEG entstehen Pfropfcopolymere mit einem PEG-Rückgrat und PVAc-Seitenketten. Eine solche Pfropfreaktion verläuft niemals vollständig, so dass neben den eigentlichen Pfropfcopolymeren auch die jeweiligen Homopolymere (PEG und PVAc) im Reaktionsprodukt vorliegen. Die hergestellten Proben unterschieden sich im

VAc/PEG-Verhältnis und dem Molekulargewicht des PEG-Rückgrats. Durch SEC mit THF als mobiler Phase konnte festgestellt werden, dass der Molekulargewichtszuwachs infolge der Pfropfung vom Molekulargewicht des eingesetzten PEGs und vom VAc/PEG-Verhältnis abhängt. Mit Zunahme des VAc/PEG-Verhältnisses nimmt das Molekulargewicht des Copolymers bezogen auf das eingesetzte PEG stärker zu. Bei gleichen VAc/PEG-Verhältnissen aber unterschiedlichen Molekulargewichten des PEG-Rückgrats wächst das Molekulargewicht des Copolymers mit dem Molekulargewicht des PEG. Unter der Voraussetzung, dass die VAc-Aktivität in allen Reaktionen gleich ist, konnte man aber feststellen, dass pro PEG-Wiederholungseinheit bei einem kürzerkettigen Rückgrat mehr PVAc-Seitenketten aufgepfropft wurden. Damit bilden kürzerkettige PEGs stark verzweigte Pfropfcopolymerketten, während bei längerkettigen PEGs der lineare Charakter der Kette zunimmt.

(7) Zur Auftrennung der Komponenten der Pfropfreaktion wurde die Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption von PVAc genutzt. Kritische Bedingungen wurden im vorliegenden Fall mit einer mobilen Phase von THF-Wasser auf einem Kieselgel RP-18 erhalten. Mit diesen chromatographischen Bedingungen konnte PVAc-Homopolymer vom Pfropfcopolymer abgetrennt und quantifiziert werden. Die höchsten Anteile an PVAc wurden in den Reaktionsprodukten mit dem höchsten VAc/PEG-Verhältnis gefunden. Durch Kopplung der LC-CC mit der NMR-Spektroskopie wurde die chemische Zusammensetzung der Reaktionsprodukte untersucht. Die Fraktionierung der Pfropfcopolymere und anschließende NMR-Analyse ergab, dass die Verteilung des VAc über den Copolymerpeak relativ einheitlich ist. Damit kann angenommen werden, dass das VAc gleichmäßig auf PEG-Moleküle unterschiedlicher Kettenlänge aufgepfropft wird.

(8) Die Korrelation zwischen chemischer Zusammensetzung und den Molekulargewichtsinformationen gelang durch die Kopplung der LC-CC und der SEC in entsprechenden 2D-Experimenten. In relativ zeitaufwändigen Experimenten mit einer Flussrate von 2,5 ml/min in der 2. Dimension konnten PEG und PVAc im 2D-Konturplot klar voneinander getrennt werden. Nach

weiterer Optimierung wurden vergleichbar gute Trennungen auch bei einer Flussrate von 8 erreicht. Der ursprüngliche zeitliche Aufwand von vier Stunden konnte so auf 70 Minuten reduziert werden. Probleme bei der Detektion von geringen Mengen PVAc in den Reaktionsprodukten konnten dadurch vermieden werden, dass die Elution in der 1. Dimension vom isokratischen auf einen Gradientenmodus umgestellt wurde. Im Ergebnis eluierte das PVAc in einem (deutlich besser detektierbaren) schmalen und hohen Peak. Damit konnte der niedrige Responsefaktor im ELSD-Detektor kompensiert werden.

(9) Bei der Hydrolyse der PEG-g-PVAc-Pfropfprodukte entstehen PEG-g-PVOH-Copolymere. Durch die Verseifung des VAc zum Alkohol steigt die Hydrophilie der Copolymere, wodurch eine Löslichkeit nur noch in wässrigen Medien gegeben ist. Dementsprechend wurden die Molekulargewichte der Copolymere durch SEC in Wasser bestimmt. Hier wurden die gleichen Korrelationen festgestellt, die auch bei der SEC der PEG-g-PVAc-Copolymere gefunden wurden. Die Auftrennung nach der chemischen Zusammensetzung erfolgte durch LC-CC. Hier gelang es nun, den Anteil an ungepfropftem PEG abzutrennen und zu quantifizieren. Dadurch konnte nachgewiesen werden, dass in jeder Probe ungepfropftes PEG vorliegt. Die Copolymere mit dem höchsten PEG-Gehalt unterschieden sich in ihrer Elution nur unwesentlich von den entsprechenden PEGs. Damit ist bei diesen Proben der Pfropfgrad sehr gering. Für die anderen Proben wurde eine Verteilung nach den PVOH-Seitenketten gefunden, welche umso breiter war, je mehr PVOH in der Probe enthalten bzw. je kürzer das PEG-Rückgrat war.

(10) Bei der Verwendung von Wasser als mobiler Phase wird eine sehr große Empfindlichkeit der Auftrennung gegenüber den chromatographischen Parametern, z.B. der Flussrate, beobachtet. Deshalb wurde die Flussratenabhängigkeit der LC-CC im Detail untersucht. Diese Abhängigkeit war im Hinblick auf die 2D-Chromatographie entscheidend, weil dort die Flussraten im Vergleich zu eindimensionalen LC-CC-Experimenten deutlich reduziert werden müssen. Bei der Messung der Elutionsvolumina von PEG-Standards

bei schrittweiser Verminderung der Flussrate zeigte sich, dass sowohl die Lage der Peaks als auch die Breite sehr stark beeinflusst wurde. Mit Abnahme der Flussrate verschoben sich die Elutionsvolumina zu niedrigeren Werten. Außerdem wurde beobachtet, dass die kritischen Bedingungen nach veränderter Flussrate nicht mehr gegeben sind. In einer zweiten Serie von Experimenten wurden die kritischen Bedingungen für PEG bei niedrigen Flussraten eingestellt und die Flussrate dann schrittweise erhöht. Auch hier verschoben sich die Elutionsvolumina zu höheren Werten, wenn die Flussrate erhöht wurde. Die für das vorliegende System geforderte Abtrennung des PEG vom entsprechenden Copolymer wurde durch diesen Effekt jedoch nicht gestört. Eine mögliche Erklärung für die beobachteten Effekte ist die Veränderung des Stoffaustausches zwischen mobiler und stationärer Phase bei Veränderung der Flussrate.

(11) Durch 2D-Chromatographie konnten deutliche Unterschiede der Copolymere untereinander sichtbar gemacht werden. Für Copolymere mit kurzem PEG-Rückgrat wurden breite Verteilungen hinsichtlich der Seitenketten gefunden, während diese Verteilungen bei den Copolymeren mit langem PEG-Rückgrat sehr viel enger waren. Auch bei den vorliegenden 2D-chromatographischen Experimenten konnte mit einer hohen Flussrate in der 2. Dimension gearbeitet werden, so dass der Zeitaufwand pro Messung nur 75 Minuten betrug. Damit sind 2D-Messungen in einem Zeitfenster möglich, das sonst konventionellen SEC-Messungen entspricht.

7. Verwendete Abkürzungen

[η]	Staudinger-Index
2D-Chromatographie	zweidimensionale Flüssigchromatographie
a	Mark-Houwink-Parameter
AS	Acrylsäure
DiMPEG	Polyethylenglykol-dimethylether
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier-Transformation-Infrarot-Spektroskopie)
GPC	Gelpermeationschromatographie
HPA	Hydroxypropylacrylat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie)
K	Mark-Houwink-Parameter
K_D	Verteilungskoeffizient
K_{LAC}	Verteilungskoeffizient für die LAC
K_{SEC}	Verteilungskoeffizient für die SEC
LAC	Liquid Adsorption Chromatography (Adsorptionschromatographie)
LC-CC	Liquid Chromatography under critical conditions (Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption)
M	Molekulargewicht
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (Matrixunterstützte Laserdesorption/Ionisation)
MeOH	Methanol
M_n	zahlenmittleres Molekulargewicht
MPEG	Polyethylenglykol-monomethylether
M_w	gewichtsmittleres Molekulargewicht
NH ₄ Ac	Ammoniumacetat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (Kernmagnetische Resonanzspektroskopie)

PAS	Polyacrylsäure
PEG	Polyethylenglykol
PVAc	Polyvinylacetat
PVOH	Polyvinylalkohol
R	allgemeine Gaskonstante
SEC	Size Exclusion Chromatography (Größenausschlusschromatographie)
T	Temperatur
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Time of Flight (Flugzeit)
V_0	Zwischenkornvolumen
V_H	hydrodynamisches Volumen
V_P	Porenvolumen
V_E	Elutionsvolumen
V_{Stat}	das für die Trennung zugängliche Volumen der stationären Phase
ΔG	Freie Gibbs-Energie
ΔH	Enthalpieänderung
ΔS	Entropieänderung

8. Literaturverzeichnis

1. H.G. Elias, *Makromoleküle Bd. I*, Hüthig & Wepf Verlag, Basel Heidelberg New York, **1990**
 2. J.V. Dawkins, *Compreh. Polym. Sci.*, **1989**, 1, 231
 3. P.L. Dubin, *Aqueous Size Exclusion Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, **1988**
 4. H. Dautzenberg, W. Jaeger, J. Kötz, B. Philipp, Ch. Seidel, D. Stscherbina, *Polyelectrolytes: Formation, Characterization and Application*, Carl Hanser Verlag, Munich Vienna New York, **1994**
 5. M. Adler, Dissertation, *Entwicklung neuer chromatographischer Methoden zur Analyse von hydrophilen synthetischen Copolymeren*, TU Darmstadt, **2004**
 6. H. Benoit, Z. Grubisic, P. Rempp, D. Decker, J.G. Zilliox, *J. Chim. Phys.*, **1966**, 63, 1507
 7. Z. Grubisic, P. Rempp, H. Benoit, *J. Polymer Sci., Polymer Letters*, **1967**, 5, 753
 8. M. Stickler, D. Panke, W. Wunderlich, *Makromol. Chem.*, **1987**, 188, 2651
 9. C. Jackson, H.G. Barth, *Trends Polym. Sci.*, **1994**, 2 (6), 203
 10. G. Glöckner, "Gradient HPLC of Copolymers and Cross-Fractionation", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **1991**
 11. G. Glöckner, *Adv. Polym. Sci.*, **1986**, 79, 159
 12. G. Glöckner, *Polymercharakterisierung durch Flüssigchromatographie*, VEB Deutscher Verlag für Wissenschaften, Berlin, **1980**
 13. H. Pasch, B. Trathnigg, „HPLC of Polymers“, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, **1998**
 14. T. Chang, *Adv. Polym. Sci.*, **2003**, 163, 1
 15. B.G. Belenkii, E.S. Gankina, M.B. Tennikov, L.Z. Vilenchik, *Dokl. Akad. Nauk SSR*, **1976**, 231 (5), 1147
 16. B.G. Belenkii, M.D. Valchikhina, I.A. Vakhtina, E.S. Gankina, O.G. Tarakanov, *J. Chromatogr.*, **1976**, 129, 115
-

17. B.G. Belenkii, E.S. Gankina, M.B. Tennikov, L.Z. Vilenchik, *J. Chromatogr.*, **1978**, 147, 99
 18. A.M. Skvortsov, B.G. Belenkii, E.S. Gankina, M.B. Tennikov, *Vysokomol. Soed. A*, **1978**, 20 (3), 678
 19. A.M. Skvortsov, A.A. Gorbunov, *J. Chromatogr.*, **1986**, 358, 77
 20. A.A. Gorbunov, A.M. Skvortsov, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **1995**, 62, 31
 21. A. Gorbunov, B. Trathnigg, *J. Chromatogr. A*, **2002**, 955, 9
 22. T. Macko, D. Hunkeler, *Adv. Polym. Sci.*, **2003**, 163, 61
 23. T. Macko, D. Hunkeler, D. Berek, *Macromolecules*, **2002**, 35, 1797
 24. H. Pasch, *Polymer*, **1993**, 34 (19), 4095
 25. H. Pasch, C. Brinkmann, Y. Gallot, *Polymer*, **1993**, 34, 4100
 26. H. Pasch, M. Augenstein, *Makromol. Chem.*, **1993**, 194, 2533
 27. H. Pasch, Y. Gallot, B. Trathnigg, *Polymer*, **1993**, 34, 4986
 28. A. Bruell, Dissertation, *Entwicklung schneller chromatographischer Methoden für komplexe Polymere*, TU Darmstadt, **2006**
 29. P.J.C.H. Cools, F. Maesen, B. Klumperman, A.M. van Herk, A.L. German, *J. Chromatogr. A*, **1996**, 736 (1-2), 125
 30. H.J.A. Philipsen, B. Klumperman, A.L. German, *J. Chromatogr. A*, **1996**, 247 (2), 223
 31. H.J.A. Philipsen, M. Oestreich, B. Klumperman, A.L. German, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 775 (1-2), 157
 32. H. Pasch, *Adv. Polym. Sci.*, **2000**, 150, 2
 33. P. Kilz, R.P. Krüger, H. Much, G. Schulz, *Polym. Mater. Sci. Eng.*, **1993**, 69, 114
 34. P. Kilz, R.P. Krüger, H. Much, G. Schulz, *Adv. Chem. Ser.*, **1995**, 247, 223
 35. P. Kilz, *Laborpraxis*, **1992**, 6, 628
 36. P. Kilz, H. Pasch, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, (R.A. Meyers, ed.) Wiley, Chichester **2000**
 37. P. Kilz, *Encyclopedia of Chromatography*, (Jack Cazes, ed.) Dekker, New York **2001**
 38. J. Adrian, D. Braun, H. Pasch, *LC-GC Int.*, **1998**, 11, 32
-

-
39. A. Siewing, J. Schierholz, D. Braun, G.P. Hellmann, H. Pasch, *Macromol. Chem. Phys.*, **2001**, 202, 2890
 40. A. Siewing, B. Lahn, D. Braun, H. Pasch, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, **2003**, 41, 3143
 41. B. Trathnigg, *Prog. Polym. Sci.*, **1995**, 20, 650
 42. S.T. Balke, R.D. Patel, *J. Polym. Sci. Polym. Lett.*, **1980**, 18, 453
 43. H. Pasch, *Macromol. Symp.*, **2002**, 178, 25
 44. T. Chang, *Adv. Polym. Sci.*, **2003**, 163, 1
 45. S. Mori, *Anal. Chem.*, **1989**, 34 (23), 530
 46. S. Mori, H.G. Barth, *Size Exclusion Chromatography*, Springer, Heidelberg, **1999**
 47. P.P. Nefedov, *Polym. Sci. USSR*, **1981**, 23, 1055
 48. R.J. Brüssau, *Macromol. Chem., Macromol. Symp.*, **1992**, 61, 199
 49. S. Förster, M. Schmidt, *Adv. Polym. Sci.*, **1995**, 120, 51
 50. K.A. Stacey, *Light-Scattering in Physical Chemistry*, Butterworth, London, **1956**
 51. M. Antonietti, A. Briel, S. Förster, *Macromolecules*, **1997**, 30, 2700
 52. M. Antonietti, A. Briel, S. Förster, *J. Chem. Phys.*, **1996**, 105 (17), 7795
 53. P.J. Flory, *Principles in Polymer Science*, 15. Auflage, Cornell University Press, **1953**
 54. K. Rissler, *J. Chromatogr. A*, **1996**, 742, 1
 55. H. Pasch, C. Brinkmann, H. Much, U. Just, *J. Chromatogr.*, **1992**, 623 (2), 315
 56. H. Pasch, I. Zammert, *J. Liquid Chromatogr.*, **1994**, 17, 3091
 57. G. Schlotterbeck, H. Pasch, K. Albert, *Polymer Bull.*, **1997**, 38, 673
 58. B. Trathnigg, D. Thamer, X. Yan, B. Maier, H.-R. Holzbauer, H. Much, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 665, 47
 59. B. Trathnigg, B. Maier, D. Thamer, *J. Liquid Chromatogr.*, **1994**, 17, 4285
 60. B. Trathnigg, B. Maier, A. Gorbunov, A. Skvortsov, *J. Chromatogr. A*, **1997**, 791, 21
 61. A. Skvorzov, B. Trathnigg, *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1015, 31
-

-
62. S.L. Phillips, L. Ding, M. Stegemiller, S.V. Olesik, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 5539
63. S.L. Phillips, S.V. Olesik, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 5544
64. H. Pasch, M. Adler, F. Rittig, S. Becker, *Macromol. Rapid Commun.*, **2005**, 26, 438
65. M. Adler, F. Rittig, S. Becker, H. Pasch, *Macromol. Chem. Phys.*, **2005**, 206, 2269
66. H. Pasch, M. Adler, D. Knecht, F. Rittig, R. Lange, *Macromol. Symp.*, **2006**, 231, 166
67. V.R. Riley, I. Razl, *Composites*, **1974**, 5 (1), 27
68. G. Bradley, I.M. Howarth, *Cement, Concrete and Aggregates*, **1986**, 8 (2), 68
69. T. Adam, C. Lemmer, P. Grübel, *Polymer Forschung Darmstadt*, **2005**, 1, 58
70. C.-Z. Li, N.-Q. Feng, Y.-D. Li, R.-J. Chen, *Cem. Concr. Res.*, **2005**, 35, 867
71. A.A. Manaseer, K.W. Nasser, M.D. Haug, *Concrete Int.*, **1989**, 11 (10), 40
72. A.A. Manaseer, A.J. Albert, *ACI Mater. J.*, **1995**, 92 (3), 286
73. O.E. Gjorv, *Concrete Int.*, **1998**, 20 (9), 57
74. L.E. Oppenheimer, T.H. Mourey, *J. Chromatogr.*, **1985**, 323, 297
75. M. Dreux, M. Lafosse, L. Morin-Allory, *LC-GC Int.*, **1996**, 3, 148
76. T.H. Mourey, *J. Chromatogr.*, **1986**, 357, 101
77. T.H. Mourey, L.E. Oppenheimer, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 2427
78. C.S. Young, J.W. Dolan, *LC-GC Eur.*, **2003**, 3, 2
79. R. Schultz, H. Engelhardt, *Chromatographia*, **1990**, 29 (11/12), 517
80. K. Wutz, persönliche Mitteilung, Degussa Construction Polymers GmbH, **2004**
81. T. Mangel, persönliche Mitteilung, Degussa Construction Polymers GmbH, **2004**
82. R. Gutzler, M. Smulders, R. Lange, *Macromol. Symp.*, **2005**, 225, 81
83. K.-H. Kahrs, J.W. Zimmermann, *Die Makromolekulare Chemie*, **1962**, 75
-

-
84. KollicoatTM IR, Poly(vinyl alcohol)-poly(ethylene glycol) graft copolymer for instant-release coatings and quick-dissolving formulations, BASF Technical Information, **2003**
85. J.V. Dawkins, T.A. Nicholson, A.J.H. Handley, E. Meehan, A. Nevin, P.L. Shaw, *Polymer*, **1990**, 40, 7331
86. H. Pasch, P. Kilz, *Macromol. Rapid. Commun.*, **2003**, 24, 104
87. A. Van der Horst, P.J. Schoenmakers, *J. Chromatogr. A*, **2003**, 1000, 693
88. T. Macko, M. Chalanyova, D. Berek, *J. Liquid Chromatogr.*, **1986**, 9 (6), 1123
89. J.J. van Deemter, F.J. Zuiderweg, F.J. Klingenberg, A. *Chem. Eng. Sci.*, **1956**, 5, 271
-

Lebenslauf

Geburtsdatum 16. August 1978

Geburtsort Frankfurt am Main

Staatsangehörigkeit Deutsch

Familienstand ledig

Schulausbildung 1985 – 1989 Grundschule Ringheim
1989 – 1998 Maria-Ward-Schule Aschaffenburg,

Abitur

1998 Abitur

Ausbildung **WS 1998 – SS 2003** Studium im Fachbereich Chemie an der Technischen Universität Darmstadt

2000 Vordiplom

2003 Diplomarbeit am Deutschen Kunststoff-Institut in Darmstadt, Thema: *Darstellung und Charakterisierung von Modell-Ionomeren*

Nov. 2003 – Dez. 2006 Promotion am Deutschen Kunststoff-Institut in Darmstadt, Thema: *Mehrdimensionale Analytik von hydrophilen synthetischen Copolymeren*

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich meine Dissertation selbständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

Darmstadt, 21.11.2006; Daniela Knecht

Erklärung

Ich erkläre hiermit, noch keinen Promotionsversuch unternommen zu haben.

Darmstadt, 21.11.2006, Daniela Knecht
